

Institut für Pflanzenbau  
Professur für Speziellen Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
Prof. Dr. J. León

---

Introgression von Resistenzgenen gegen *Drechslera teres* (Netzflecken an Gerste) aus  
Wildgerste *H. vulgare* ssp. *spontaneum* in Kulturgerste *H. vulgare* ssp. *vulgare*

## **Inaugural – Dissertation**

zur  
Erlangung des Grades

Doktor der Agrarwissenschaften  
(Dr. agr.)

der  
Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät  
der  
Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität  
zu Bonn

vorgelegt am 3. Mai 2005

von  
Dipl.-Ing. agr. Alexandra G. Gay  
aus  
Leverkusen

Erster Berichterstatter: Prof. Dr. J. Léon  
Zweiter Berichterstatter: Prof. Dr. H.-W. Dehne  
Tag der mündlichen Prüfung: 29. August 2005

Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn [http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss\\_online](http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online) elektronisch publiziert.

## Abstrakt

Dem Erreger der Netzfleckenkrankheit an Gerste, *Pyrenophora teres*, kommt bei den pilzlich bedingten Blattkrankheiten der Gerste eine immer wichtiger werdende wirtschaftliche Bedeutung zu. Grund hierfür ist vor allem in den letzten Jahren der Einsatz gezielter, erregerspezifischer Fungizidapplikationen, wodurch eine Lücke zur Bekämpfung der Netzfleckenkrankheit entstanden ist. Es wird von durchschnittlichen Ertragseinbußen von bis zu 40 % berichtet (Brandl und Hoffmann 1991).

Diese Arbeit nutzt eine neue Resistenzquelle aus *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum* gegen *P. teres* zur Verbesserung der Resistenz von Kulturgersten (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*), um die in der Literatur teils vermutete und beschriebene quantitative Vererbung zu bestätigen sowie mögliche epistatische Effekte zu analysieren.

Mit einer BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Testpopulation Arena x BGRC 41923 mit 636 Pflanzen wurden *in vitro* Resistenztestungen mit dem Isolat 67/1 (Sachs, BBA Braunschweig) des Erregers *P. teres* durchgeführt. Anschließend erfolgte eine SSR-Marker-Analyse zur Detektion von QRL (*Quantitative resistance loci*) hinsichtlich dieser Resistenz. Hierzu dienten im ersten Schritt der Analyse die Einzelpflanzen der resistenten und der anfälligen Extrema-Gruppe der Testpopulation, welche durch die *Bulked segregant analysis* nach Michelmore et al. (1991) erstellt wurden und je 15 % der Population widerspiegeln. Im zweiten Schritt erfolgte die Genotypisierung der gesamten Testpopulation mittels der SSR-Marker, welche in der statistischen Verrechnung aus der ersten Arbeitsphase Hinweise auf putative QRL ergaben. Zur Verifikation wurden zwei BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Verifikationspopulation Berolina x BGRC 41923 mit 174 Pflanzen und Golf x BGRC 41923 mit 154 Pflanzen sowie eine F<sub>2</sub>-Verifikationspopulation Pasadena x BGRC 41923 mit 167 Pflanzen verwendet. Diese Pflanzen wurden mittels der putativen SSR-Marker der Testpopulation im Hinblick auf die QRL analysiert.

In der Betrachtung der Einzelgenorte zeigten die Untersuchungen QRL, welche die mittlere Befallsstärke mit *P. teres* um ca. 50-75 % auf 3,7-8,3 % senkten. Des Weiteren konnten epistatische Effekte zwischen einigen untersuchten Marker-Loci festgestellt werden. Diese führten zu Befallsreduktionen von bis zu 96 % und damit auf eine Befallsstärke unter 1 %.

Insgesamt konnten acht QRL für die Resistenz gegen *P. teres* detektiert werden: Pt BIa (1H, GMS021), Pt BIb (1H, Bmag0347, HVALAAT), Pt BII (2H, HVM36), Pt BIIIa, Bmag0606), Pt BIIIb (3H, EBmac0708), Pt IVa (4H, EBmac0906, HVPDIA), Pt BIVb (4H, EBmac0679) und Pt BVI (6H, HVM74, Bmag0613). Die QRL markierenden SSR-Marker könnten in der Resistenzzüchtung zur markergestützten Selektion eingesetzt werden.

## Abstract

### **Introgression of resistance genes against *Drechslera teres* (net blotch diseases on barley) from wildbarley *H. vulgare* ssp. *spontaneum* in cultivar barley *H. vulgare* ssp. *vulgare***

The net blotch pathogen of barley, *Pyrenophora teres*, gains more and more in economic importance among the fungoid foliar diseases of barley. One reason for it is the use of systematic, pathogen specific fungicide applications having caused a gap in the combat of *P. teres*. Profit cuts of up to 40% on an average are reported (Brandl und Hoffmann 1991).

This project uses a new source of resistance derived from a wild form of barley (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) against *P. teres* improving the resistance of cultured barley (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) in order to confirm the quantitative heredity as it has been partly assumed and described in literature, and to analyse potential epistatic effects and the use of “Bulked segregant analysis” (BSA) according to Michelmore et al. (1991). With a BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> test population Arena x BGRC 41923 of 636 plants resistance tests were conducted with the isolate 67/1 (Sachs, BBA Braunschweig) derived from the pathogen. It was followed by an analysis for detection of QRL (Quantitative resistance loci) as to this resistance. As a first step of analysis the individual plants of the resistant and the susceptible extrema group of the test population were used which had been made by BSA and reflected 15% each of the population. In a second step the whole test population was genotyped by means of SSR markers which, based on the statistic allocation of the first stage, gave a reference to putative QRL. For verification two BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub> verification populations, Berolina x BGRC 41923 with 174 plants and Golf x BGRC 41923 with 154 plants, and one F<sub>2</sub> verification population, Pasadena x BGRC 41923 with 167 plants, were used. These plants were analysed by means of the test population’s putative SSR marker as to QRL.

Analysis of individual gene loci showed QRL which reduced the mean degree of infestation with *P. teres* by about 50-75% to 3.7-8.3%. Additionally, epistatic effects as a result of interactions between some of the examined marker loci were noticed. These led to a reduction of infestation by up to 96% and thus to an infestation of less than 1%. All in all eight QRL were detected for a resistance against *P. teres*: Pt BIa (1H, GMS021), Pt BIb (1H, Bmag0347, HVALAAT), Pt BII (2H, HVM36), Pt BIIIa, Bmag0606), Pt BIIIb (3H, EBmac0708), Pt IVa (4H, EBmac0906, HVPDIA), Pt BIVb (4H, EBmac0679) und Pt BVI (6H, HVM74, Bmag0613). The SSR markers of these QRL could be used in resistance breeding for a marker assisted selection.

## INHALTSVERZEICHNIS

<b>ABSTRAKT</b> .....	<b>I</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>II</b>
<b>1. EINLEITUNG</b> .....	<b>1</b>
1.1 KULTURPFLANZE GERSTE .....	1
1.2 BEDEUTSAME KRANKHEITEN DER GERSTE.....	2
1.3 BIOLOGIE DES ERREGERS DER NETZFLECKENKRANKHEIT DER GERSTE .....	2
1.3.1 TAXONOMISCHE STELLUNG DES ERREGERS .....	3
1.3.2 VERMEHRUNGSORGANE.....	4
1.3.3 INFEKTIONSKREISLAUF.....	4
1.3.4 BEDINGUNGEN DER PILZSPORENKEIMUNG .....	4
1.3.5 VORGANG DER SPORENKEIMUNG UND INFEKTION DER WIRTSZELLE.....	5
1.4 INTERAKTIONEN VON WIRT UND SCHADERREGER.....	5
1.4.1 SCHADWIRKUNG UND WIRTSPFLANZENKREIS.....	5
1.4.2 SYMPTOME UND VERWECHSLUNGSMÖGLICHKEITEN.....	7
1.5 RESISTENZ GEGEN <i>P. TERES</i> .....	8
1.6 AKTUELLER STAND DER LOKALISATION DER RESISTENZ GEGEN NETZFLECKEN AN GERSTE .....	10
1.7 ZIEL DIESER ARBEIT .....	12
<b>2. MATERIAL UND METHODEN</b> .....	<b>13</b>
2.1 PFLANZENMATERIAL .....	13
2.2 PILZMATERIAL.....	14
2.2.1 KULTIVIERUNG.....	15
2.2.2 SPORULATION DES PATHOGENS SOWIE INOKULUM-HERSTELLUNG .....	17
2.2.3 AUSWAHL EINES ISOLATES .....	17
2.3 RESISTENZTESTUNG .....	18
2.3.1 ANZUCHT UND PROBENNAHME DES PFLANZENMATERIALS.....	18
2.3.2 AUFBAU UND DURCHFÜHRUNG DER RESISTENZ-TESTUNG .....	19
2.3.3 AUSWERTUNG DER RESISTENZ-TESTUNG .....	20
2.4 DNA-EXTRAKTION .....	21
2.4.1 MAXIPREP-METHODE .....	22
2.4.2 EXPRESSPREP-METHODE.....	22
2.5 KONTROLLE DER DNA-EXTRAKTION IM AGAROSE-GEL.....	23

2.6	SSR-MARKER-ANALYSE .....	24
2.6.1	PCR-ANSATZ FÜR DEN EINSATZ VON SSR-MARKERN .....	24
2.6.2	POLYACRYLAMID-GEL .....	26
2.6.3	ELEKTROPHORETISCHE AUFTRENNUNG DER AMPLIFIZIERTEN PRODUKTE IM PAA-GEL .....	27
2.6.4	IDENTIFIKATION DER ELEKTROPHORETISCH AUFGETRENNTEN PRODUKTE .....	27
2.6.5	AUSWERTUNG DER ENTWICKELTEN PAA-GELE .....	28
2.6.6	GENOTYPISIERUNG DER POPULATIONEN .....	29
2.7	QRL-ANALYSE .....	30
<b>3.</b>	<b>ERGEBNISSE .....</b>	<b>32</b>
3.1	KULTIVIERUNG UND AUSWAHL EINES <i>DRECHSLERA TERES</i> -ISOLATES .....	32
3.2	AUSWAHL DES KULTURELTERS FÜR DIE TESTPOPULATION .....	33
3.3	RESISTENZ-TESTUNG: BONITUR BEFALL .....	33
3.3.1	TESTPOPULATION ARENA X 41923 .....	33
3.3.2	VERIFIKATIONSPOPULATIONEN ( <i>BEROLINA, GOLF UND PASADENA X 41923</i> ) .....	35
3.4	RESISTENZ-TESTUNG: BONITUR TYP .....	41
3.4.1	TESTPOPULATION ARENA X 41923 .....	41
3.4.2	VERIFIKATIONSPOPULATIONEN ( <i>BEROLINA, GOLF UND PASADENA X 41923</i> ) .....	42
3.5	SSR-MARKER-ANALYSE .....	47
3.5.1	TESTPOPULATION ARENA X 41923 .....	48
3.5.2	VERIFIKATIONSPOPULATIONEN .....	59
3.6	KORRELATION VON BONITURMERKMALEN BEFALLSSTÄRKE UND TYP .....	65
3.7	DARSTELLUNG DER DETEKTIERTEN QRLS FÜR DIE RESISTENZ GEGEN <i>P. TERES</i> .....	67
<b>4.</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>70</b>
4.1	MATERIAL .....	70
4.2	RESISTENZTESTUNG .....	71
4.3	GENOTYPISIERUNG MIT SSR-MARKERN .....	71
4.4	DETEKTION DER PUTATIVEN QRL .....	74
4.5	QUALITÄT DER PUTATIVEN QRL .....	76
4.6	VERIFIKATION DER PUTATIVEN QRL .....	86
4.7	EINSATZ DER BULKED SEGREGANT ANALYSIS .....	89
4.8	KORRELATION BEFALLSSTÄRKE MIT TYP .....	90
4.9	VERGLEICH MIT BISHER BESCHRIEBENEN QRL FÜR RESISTENZ GEGEN <i>P. TERES</i> .....	91
4.10	LOKALISATION VON RESISTENZGENEN IN GERSTE .....	96
4.11	STABILITÄT VON RESISTENZ-QTL .....	98
4.12	WIRKUNGSWEISE DER QRL .....	98

---

4.13 INTROGRESSION VON WILDALLELEN .....	99
4.14 VORAUSSICHTLICHER NUTZEN UND VERWENDBARKEIT DER ERGEBNISSE .....	100
<b>5. ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>102</b>
<b>6. ANHANG .....</b>	<b>104</b>
<b>7. LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>112</b>
<b>8. ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>123</b>
<b>9. TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>125</b>
<b>10. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS.....</b>	<b>127</b>
<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>128</b>

## 1. Einleitung

Seit Beginn der Kultivierung von Nutzpflanzen findet eine stetige Selektion hinsichtlich der Ertragsteigerung und eng damit verbunden der Pflanzengesundheit statt.

Die ersten Schritte der landwirtschaftlichen Selektion vollzogen sich größtenteils auf Grund empirischer Auslese in Abhängigkeit der vorherrschenden Umweltbedingungen. Ab dem 20. Jahrhundert setzte durch die Wiederentdeckung der Mendelschen Gesetze eine Pflanzenzüchtung auf wissenschaftlicher Basis ein. Die jüngsten genetischen Kenntnisse und die Entwicklung modernster molekularbiologischer Methoden in der Neuzeit bieten heutzutage vielfältige Möglichkeiten zur Anpassung unserer Kulturpflanzen an die wirtschaftlichen und ernährungsphysiologischen Anforderungen an landwirtschaftliche Pflanzenprodukte sowie ihre Anpassung an sich wandelnde Umweltbedingungen.

Zu den Zuchtzielen der heutigen Pflanzenzüchtung gehört unter anderem die Resistenzzüchtung gegen Pflanzenkrankheiten. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich mit der Introgression von Resistenzgenen gegen *Drechslera teres* (Netzflecken an Gerste) aus Wildgerste (*H. vulgare ssp. spontaneum*) in Kulturgerste (*H. vulgare ssp. vulgare*) unter der Anwendung von *in vitro* Resistenztestungen in Kombination mit molekularer Markertechnik.

### 1.1 Kulturpflanze Gerste

Die Gattung *Hordeum* gehört zur Familie der Süßgräser (*Poaceae* = *Gramineae*), welche zwei- und mehrzeilige, winter- und sommerannuelle sowie bespelzte und freidreschende Formen umfasst. Bei der heutigen Kulturgerste (*Hordeum vulgare*) geht man davon aus, dass sie aus der Wildform der Gerste (*Hordeum spontaneum*) hervorgegangen ist und deren Ursprung im Gebiet des fruchtbaren Halbmondes (Israel, Syrien, Iran, Irak und Türkei) zu sehen ist. Kreuzungen dieser beiden Arten mit einer Chromosomenanzahl von jeweils  $n=7$  bringen fertile Nachkommen hervor (Fischbeck 1985; Geisler 1983).

Die große Anpassungsfähigkeit der Gerste an verschiedenste Klimate macht sie mit einer weltweiten Anbaufläche von 57,03 Mio. ha im Jahr 2004 (FAO) neben Weizen, Reis und Mais zu einer der wichtigsten Getreidearten der Welt. Im Jahre 2004 wurden weltweit 155 Mio. t Gerste produziert, von denen 18 Mio. t von Russland und je 13 Mio. t von Kanada und Deutschland produziert wurden (FAO). Die deutsche Erntemenge verteilt sich zu zwei Drittel auf die Wintergerste- und zu einem Drittel auf die Sommergersteproduktion (Agrarbericht 2005).

Die Anbauregionen der Gerste erstrecken sich von den Trockengebieten der Subtropen bis an die Grenzen des Ackerbaus in Nordeuropa und in Tibet auf Höhen von bis zu 4.000 m mit nur ca. 60 Reifetagen. Archäologische Funde belegen, dass Wildformen der Gerste schon 16.000 v.



Chr. von den Ägyptern genutzt wurden (Fehr 1987). Heutzutage werden je nach Nutzungsrichtung die meist zweizeiligen Sommergersten mit niedrigem Proteingehalt als Braugersten verwendet. Zwei- und mehrzeilige Wintergersten mit hohen Proteingehalten dienen Futterzwecken (Becker 1993).

## 1.2 Bedeutsame Krankheiten der Gerste

Neben Nährstoffmangelerkrankungen (Magnesium- oder Manganmangel) und den bekannten Gerstenvirosen, viröse Gelbverzweigung (Barley Yellow Dwarf Virus) und Gelbmosaik der Gerste (Barley Yellow Mosaic Virus), befallen verschiedene pilzliche Krankheitserreger die Gerste. Zudem verstärkt sich seit einigen Jahren auch das Auftreten von nicht parasitären Blattverbräunungen, deren Ursache bisher noch nicht eindeutig erklärt werden konnte.

Zu den bedeutsamsten Pilzkrankheiten an Gerste gehören die Halmbruchkrankheit (*Pseudocercospora herpotrichoides*), die Typhula-Fäule (*Typhula incarnata*), die Rhynchosporium-Blattfleckenkrankheit (*Rhynchosporium secalis*), der Echter Mehltau (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*), der Zwergrost (*Puccinia hordei*) sowie die Braunfleckigkeit (*Helminthosporium sativum* / *Biopolaris sorokinniana* / *Cochliobolus sativus*). Des Weiteren wird zu dieser Gruppe die Netzfleckenkrankheit an Gerste (*Pyrenophora teres*) gezählt. Das weltweite Auftreten sowie die wirtschaftliche Bedeutung dieser Pflanzenkrankheit geben den Anlass für die Bearbeitung des Themas dieser Arbeit.

## 1.3 Biologie des Erregers der Netzfleckenkrankheit der Gerste

Die weltweit verbreitete Netzfleckenkrankheit der Gerste zählt zu den Blattkrankheiten, die durch einen pilzlichen Erreger verursacht wird. In Deutschland tritt diese Krankheit verstärkt seit Beginn der 80er Jahre auf (Giehl 1984), während sie in den USA ((Mode und Schaller 1958; Shoemaker 1962), Kanada (Buchannon und McDonald 1965) sowie in Großbritannien (Jordan 1981) schon seit 1930 zu den stark ertragsmindernden Krankheiten an Gerste gehört. In Argentinien brach diese Krankheit erstmals zwischen 1990 und 1994 aus und etablierte sich dort zu der bedeutendsten Gerstenkrankheit (Carmona et al. 1999). In Deutschland werden Ertragsverluste von bis zu 40 % durch das Auftreten der Netzfleckenkrankheit in Gerstenbeständen bestätigt (Brandl und Hoffmann 1990).

Für die weltweite Verbreitung dieses Krankheitserregers in den letzten Jahrzehnten sind mehrere Faktoren ausschlaggebend. An erster Stelle seien die enger gestellte Fruchtfolge mit hohem Getreideanteil sowie frühzeitigeren Aussaaten zu nennen. Beide Faktoren können zur

Neuinfizierung von benachbarten oder Folgebeständen führen (Obst und Huber 1986; Obst et al. 1995). In Kombination mit der nicht wendenden Bodenbearbeitung, bei der infizierte Ernterückstände nur unzureichend eingearbeitet werden, werden die Effekte zusätzlich verstärkt.

Des Weiteren ist durch das Anwendungsverbot von Quecksilberbeizen seit 1982 (Obst und Huber 1986) und durch den Einsatz gezielter, erregerspezifischer Fungizidapplikationen (Seidel 1992) in den letzten Jahren eine Lücke zur Bekämpfung der Netzfleckenkrankheit entstanden.

Zuletzt sei der erhöhte Stickstoffeinsatz in der Getreideproduktion als weiterer Grund für den ansteigenden Befall durch Netzflecken zu vermerken.

### 1.3.1 Taxonomische Stellung des Erregers

Der Erreger der Netzfleckenkrankheit an Gerste wird im Pilzreich der Abteilung der *Eumycota*, Unterabteilung *Ascomycotina* und der Klasse *Loculoascomycetes* zugeordnet, welche mehr als 500 Gattungen mit ca. 2.000 Arten umfasst (Hoffmann et al., 1994). Unter diesen Arten befinden sich zahlreiche Pflanzenpathogene, die oft eine starke Spezialisierung zum Wirt besitzen. Der Erreger gehört in die Ordnung *Dothideales* und wird dort mit seiner perfekten Form der Gattung und Art *Pyrenophora teres* Drechs. zugeordnet (Drechsler 1923). Nach neuerer taxonomischer Gliederung werden die Unterabteilungen als Abteilungen betrachtet, so dass heute der Erreger der Netzfleckenkrankheit zur Abteilung *Ascomycota* gehört und die Gattung *Pyrenophora* zur Ordnung *Pleosporales* (Agrios 1997). Die zuerst entdeckte anamorphe imperfekte Form wird als *Drechslera teres* Sacc. (Shoemaker 1959) bezeichnet und wurde vor der Entdeckung der Hauptfruchtform der Unterabteilung der *Deuteromycotina* (*Fungi imperfecti*) zugeordnet. In älteren Literaturquellen wird *Helminthosporium teres* Sacc. (Saccardo 1882) als Synonym der Nebenfruchtform genannt.

Seit Anfang der 70-er Jahre wird von Smedegard-Petersen (1971) eine Unterteilung der Art *Pyrenophora teres* (*P. teres*) in zwei Formen vorgeschlagen, da neben den typischen netzartigen Symptomen (net type) von mehreren Autoren auch das Auftreten fleckenartiger Symptome (spot type) beschrieben wird (in Deutschland (Sachs et al. 1998); im mediterranen Raum (Tunesien, Algerien, Marokko, Ägypten, Zypern) (Douiyssi et al. 1998; Harrabi und Kamel 1990); in den USA (Brown et al. 1993; McDonald 1967); in Kanada: (Plaschke et al. 1995; Xi et al. 1999); in West-Australien (Khan 1982). Die Bezeichnung des Netztyps lautet *P. teres* forma *teres* und der Spottyp wird *P. teres* forma *maculata* (Mathre 1997) genannt. Beide Formen der Netzfleckenkrankheit an Gerste können vorwiegend aufgrund ihrer Symptomausprägung

unterschieden werden, nicht jedoch durch ihre Morphologie. Neuere Studien zeigen, dass es mittels molekularbiologischer Methoden möglich ist, zwischen diesen beiden Formen zu differenzieren, z.B. durch moderne Methoden wie AFLP, **amplified fragment length polymorphism** (Williams et al. 2001; Rau et al. 2003), RAPD, **random amplified polymorphic DNA** (Peltonen et al. 1996) oder RFLP, **restriction fragment length polymorphism** (Wu et al. 2003).

### **1.3.2 Vermehrungsorgane**

Die Verbreitung der Netzfleckenkrankheit an Gerste erfolgt überwiegend durch Konidien, die zylindrisch und an den Enden abgerundet sind. Ihre Farbe variiert von subhyalin über strohgelb bis braun. Die Konidien weisen durchschnittlich 4-6 Pseudosepten auf. Ihre Größe beträgt in den meisten Fällen 90-120 x 16-23 µm.

Neben Konidien bildet dieser Pilz im Frühjahr an Stoppel- und Strohresten Pseudothecien (200 – 400 µm) mit Asci aus (Hoffmann und Schmutterer 1983). Im Regelfall enthalten die Asci je 8 gelblich-braune Ascosporen mit einer Größe von 18-22 x 51-60 µm (Drechsler 1923).

Des Weiteren wird das Auftreten von Pyknidien (67-180 µm) beschrieben, deren Bildung an infiziertem Stroh, Blättern oder Samen zu beobachten ist. Jedoch sind die in ihnen befindlichen Pyknosporen (1,5-3,1 x 1,2-2,1 µm) nicht fähig Gerste zu infizieren (Jordan 1981; Seidel 1992).

### **1.3.3 Infektionskreislauf**

Eine Infektion mit *P. teres* erfolgt meistens über Anemochorie und Hydrochorie der Konidien bei einer Reichweite von mehreren Metern oder über die aktive Ausbreitung der Ascosporen über den Bereich von wenigen Zentimetern, sowie mittels Mycelübertragung auf Saatgut bis zum Keimling. Als Inokulumquellen können infiziertes Ausfallgetreide, Strohreste oder Saatgut dienen.

Die Primärinfektion findet im Herbst oder Frühjahr über Konidien, Ascosporen oder im Extremfall über Mycel des infizierten Saatgutes statt. Im Getreidebestand breitet sich die Krankheit bei optimalen Bedingungen über die wind- und wassertransportierten Konidien von den unteren befallenen Blattetagen bis zum Fahnenblatt hinauf aus (Sekundärinfektion).

### **1.3.4 Bedingungen der Pilzsporenkeimung**

Zum Zeitpunkt der Primärinfektion fördern Bodentemperaturen von 3-10 °C mit trockener Luft die Keimung. Im späteren Verlauf entwickeln sich Konidien des fakultativen Erregers der

Netzfleckenkrankheit auf abgestorbenem Blattmaterial bei humiden Bedingungen mit 12-18 °C. Ihre Ablösung und damit die Verbreitung setzt nach deutlicher Reduktion der Luftfeuchtigkeit und bei einer Windgeschwindigkeit ab 3 m/s ein. Für eine hohe Infektionsrate ist Blattnässedauer von 10-30 Stunden erforderlich. Temperaturen von 12-25 °C bieten optimale Bedingungen für die Bildung von Nekrosen (Hoffmann und Schmutterer 1983).

Setzt man für die Entwicklung von der Infektion bis zum Zeitpunkt der ersten erkennbaren Blattflecken (Inkubationszeit) 75 Gradstunden (dies entspricht etwa 6 Tagen bei 13 °C) fest und geht weiterhin davon aus, dass die gleiche Zeitspanne für die Entwicklung der nachfolgenden Konidien-Generation benötigt wird, dann beträgt die Generationendauer unter diesen Bedingungen ca. 12 Tage (Habermeyer, 1997). Andere Autoren stellten bei der Sorte „Parkland“ eine siebentägige Dauer eines Zyklusses von der Inokulation bis zur Sporulation (Fruktationszeit) des Pathogens fest (Rowe und Reid 1979).

### **1.3.5 Vorgang der Sporenkeimung und Infektion der Wirtszelle**

Bei der Keimung der Spore entwickeln sich bis zu vier, oft verzweigte Keimschläuche. In den meisten Fällen bildet sich an deren Enden ein Appressorium. Zudem konnten auch Appressorienbildungen entlang der Keimschläuche oder am Ende der Verzweigungen beobachtet werden. Eine unmittelbare Penetration einer Epidermiszelle erfolgt jedoch nur von einem Appressorium je Konidie. Innerhalb der penetrierten Zelle entwickelt der Pilz ein kugelförmiges Infektionsvesikel mit dicken kleinzelligen Hyphen in den Apoplasten des Mesophylls (Jorgensen et al. 1998).

## **1.4 Interaktionen von Wirt und Schaderreger**

Der Begriff Wirt bezeichnet einen Organismus, auf oder in welchem sich ein oder mehrere andere Organismen (Schaderreger, Parasit, Pathogen oder Symbiont) ansiedeln und sich von ihm ernähren sowie sich in ihm vermehren. Dies bewirkt in den meisten Fällen eine Schädigung des Wirtsorganismus und kann bis zu dessen Tod führen.

### **1.4.1 Schadwirkung und Wirtspflanzenkreis**

Die Schadwirkung des Pilzes *P. teres* an Gerstenpflanzen ist zum einen durch die Zerstörung der Assimilationsfläche der Blätter gekennzeichnet, die nach Meinung mehrerer Autoren durch Pilztoxine hervorgerufen wird (Bach et al. 1979; Leistner et al. 1995; Smedegard-Petersen 1977). In neueren Veröffentlichungen werden die Pilztoxine in Toxin A [L,L-N-(2-amino-2-carboxyethyl) aspartic acid], Toxin B (anhydroaspergillomarasmine A) und Toxin C

(*aspergillomarasmine A*) unterteilt. Weiergang et al. (2002) beschreiben die Wirkungsweise der drei Toxine wie folgt: Eine Behandlung mit Toxin A löst die Bildung dunkler chlorotischer Symptome mit kleineren Nekrosen aus, Toxin C verursacht verschiedene Nekrosen und hell gelbe Chlorosen, während Toxin B nur eine schwache Wirkung in der Wirtspflanze aufweist. Friis et al. (1991) ergänzen, dass Toxin C die Ursache für den pH-Abfall im Kulturmedium von pH 6,5 auf pH 3,0 ist und als Haupt-Toxin des Erregers gilt.

Aus ertragswirtschaftlicher Sicht führen diese Zerstörungen der Blattfläche zu einer Verringerung der Tausendkornmasse (TKM) und der Anzahl der Körner pro Ähre sowie zu einer Minderung der Qualität des Erntegutes (Schaller 1955). Zum anderen ist eine reduzierte Stickstoffmenge in den reifen Körnern infizierter Pflanzen festzustellen, welche vor allem auf ein gestörtes sink-source-Verhältnis (Hancock und Huisman 1981) sowie auf eine erhöhte Atmung der befallenen Wirtspflanzen zurückzuführen ist (Deimel und Hoffmann 1998; Rowe und Reid 1979; Smedegard-Petersen 1977 und 1980). Rowe & Reid (1979) vermuten zudem ein Ungleichgewicht in der Enzymaktivität des Calvin- und Citratzyklus des infizierten Blattgewebes. Dieses trägt ebenso zur verminderten Einlagerung von Stickstoffverbindungen in den Körnern bei. Zwei Tage nach Inokulation konnten Veränderungen des Aminosäuregehaltes in inokulierten Blättern beobachtet werden. Dies ist ein weiterer Hinweis dafür, dass der Pilz in der Lage ist, den N-Stoffwechsel der Wirtspflanze zu beeinflussen (Seidel 1991). Auslöser für diesen negativen Effekt auf den Stoffwechsel des Wirtsorganismus scheinen die Toxine A & B (Smedegard-Petersen 1977) und ein weiteres nicht näher bestimmtes Toxin (Mandahar und Gard 1978) von *P. teres* zu sein.

Neben der Hauptwirtspflanze Gerste (*Hordeum* spp.) weisen weitere monokotyle Pflanzen ähnliche Blattflecken auf, die ebenfalls durch *P. teres* verursacht werden, wie zum Beispiel *Triticum* spp., *Avena fatua* L., *Secale cereale* L., *Oryza sativa* L., *Zea mays* L., *Panicum* spp., *Lolium* spp., *Dactylis* spp., *Festuca* spp., *Poa* spp., *Cenchrus* spp. sowie *Echinochloa* spp. (Huang et al. 2003; Röder et al. 1998).

In einer Untersuchung kalifornischer *P. teres* Isolate konnte ein ähnlicher Wirtspflanzenkreis bestimmt werden. Insgesamt konnten 65 Gräser-Arten als Wirtspflanzen identifiziert werden, von denen vier Gattungen (*Cynodon*, *Deschampsia*, *Hordelymus* und *Stipa*) bislang noch nicht als Wirte für den Erreger beschrieben wurden (Brown et al. 1993).

Um einem Befall mit Netzflecken an Gerste vorzubeugen, wird eine möglichst weite Fruchtfolge, die sorgfältige Stroheinarbeitung und Förderung der Rotte sowie die Beseitigung

von Ausfallgetreide empfohlen. Auf Wintergersten-Frühsaaten sowie auf Sommergersten-Anbau in direkter Nähe von Wintergersten-Beständen sollte in Gebieten mit wiederholtem Auftreten der Netzfleckenkrankheit nach Möglichkeit verzichtet werden. Der Einsatz von gesundem und gebeiztem Saatgut mindert die Gefahr der Primärinfektion mit diesem Erreger. Die Gefahr einer Infektion kann durch den Anbau resistenter Sorten zusätzlich gesenkt werden. Bei Vorliegen einer monogenen Resistenz kann diese allerdings durch Rassenbildung des Erregers durchbrochen werden.

#### 1.4.2 Symptome und Verwechslungsmöglichkeiten

Neben der charakteristischen Symptomausprägung der zwei Netzfleckentypen (*forma teres* und *forma maculata*) bereitet die sehr große Symptomvariabilität während der Wachstumsphase des Pathogens auf der Wirtspflanze bei der Erkennung und Bonitur Schwierigkeiten. Die Befallsmerkmale variieren von ungleichmäßigen, spindelförmigen oder strichelförmigen, von wenigen mm bis zu 2 cm großen, hell- bis dunkelbraunen, mit und ohne Chlorosen auftretenden Symptomen. Im Spätherbst sind bei einem Befall mit *P. teres* oft große Flecken mit aufgehellter Mitte zu beobachten (Brandl und Hoffmann 1991; Obst 2002; Obst et al. 1995; Williams et al. 2001).

Die durch infiziertes Saatgut mit dem Erreger *P. teres* befallenen Keimlinge zeigen Unterschiede in ihrer Symptomausprägung zwischen den beiden Formen der Netzfleckenkrankheit. *Forma teres* ruft hauptsächlich Flecken im Blattbereich hervor, wohingegen *forma maculata* vorwiegend Symptome an der Koleoptile verursacht (Jordan 1981).

Durch die Ähnlichkeit der verschiedensten Krankheitsbilder von *P. teres* mit Symptomen anderer Mykosen an Gerste können im Freiland leicht Verwechslungen mit Mehltaubabwehrreaktionen, *Rhynchosporium secalis*-Blattflecken und *Ramularia collo-cygni*-Infektionen vorkommen. Mikroskopische Untersuchungen sind daher für eine sichere Bestimmung zu empfehlen. Zu Befallsbeginn können Symptome der Braunfleckigkeit (*Cochliobolus sativus*), im Sommer der Streifenkrankheit (*Pyrenophora graminea*) und im Spätsommer mit *Ascochyta hordei*-Flecken zu weiteren Unterscheidungsproblemen von Netzflecken führen. Aber auch Verwechslungen mit Magnesium- oder Manganmangel sowie mit nichtparasitären Blattflecken sind nicht auszuschließen. Die ähnlichen Konidienformen des Erregers der Braunfleckkrankheit (*Drechslera sorokiniana* (= *Helminthosporium sativa* / *Cochliobolus sativa*)), der Streifenkrankheit (*Pyrenophora graminea*) sowie von *Cladosporium* erschweren zu dem die genaue Bestimmung von *P. teres*-Konidien unter dem Mikroskop (Obst 2002; Sachs et al. 1998).



**Abb. 1.1:** Beispiel eines Netzfleckensymptoms an BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Blättern der Kreuzung Berolina x 41923; 7 Tage nach Inokulation mit *D. teres*-Konidien (vergl. Abb.6.1 und Abb. 6.2, Anhang)

### 1.5 Resistenz gegen *P. teres*

Eine Resistenz beruht auf der Inkompatibilität zwischen Wirt und Pathogen. Bei der optimalen Ausprägung einer inkompatiblen Wechselwirkung überlebt der Wirt (z.B. eine Pflanze) eine Infektion mit einem Erreger, wohingegen der Schaderreger (z.B. ein phytopathogener Pilz) eine zu geringe Angriffskraft hat und abstirbt (Schwantes, 1996). Von der inkompatiblen Wirt-Parasit-Wechselwirkung existieren in der Natur fließende Übergänge zu der kompatiblen Wirt-Parasit-Wechselwirkung, welche zum Überleben und zur Vermehrung des Pathogens führen kann.

Auf der Ebene der Molekulargenetik wird die Resistenz in zwei verschiedene Typen unterschieden, die monogene und die polygene Resistenz. Die monogene Resistenz wird durch ein einzelnes Gen bestimmt (Gen-für-Gen-Hypothese nach Flor 1971), während die polygene Resistenz auf dem Zusammenwirken mehrerer Gene beruht und damit züchterisch schwieriger zu bearbeiten ist. Gebräuchlich sind neben der Beschreibung der monogenen / polygenen Resistenz ebenso die Begriffe vorübergehende / dauerhafte, vollständige / partielle, rassenspezifische / rassenunspezifische, qualitative / quantitative oder auch vertikale / horizontale Resistenz (Becker 1993).

Die physiologischen Ursachen können auf präinfektionellen oder postinfektionellen Abwehrmechanismen beruhen (Börner 1997). Zu den präinfektionellen Abwehrmechanismen gehören einerseits strukturelle Resistenzfaktoren, beispielsweise eine verdickte Cutinschicht, die Behaarung der Pflanzenoberfläche, die Borke oder besondere Strukturen der Spaltöffnungen sowie andererseits präformierte Abwehrsubstanzen (z.B. Lactone, Saponine, Glykoside,

Senföle). Bei den postinfektionellen Abwehrmechanismen handelt es sich um induzierte Resistenzfaktoren. So werden durch spezifische Genaktivierung und/oder durch so genannte Elicitoren (z.B. Glycoproteine, Polysaccharide, Glucane) aktiviert. Hierzu zählen unter anderem die Papillenbildung, die Lignifizierung sowie die Synthese von Phytoalexinen, Phenolen, PR (*pathogenesis-related*)-Proteinen (Abwehrproteine) und Hydroxyprolin-reichen Glykoproteine (Hammerschmidt et al. 2001; Liljeroth et al. 2001; Peltonen 1999; Reiss und Horstmann 2001).

Im Zusammenhang mit Resistenz werden häufig die Begriffe **hypersensitive Reaktion** (HR), *oxidative burst* oder *reactive oxygen intermediates*, ROI; (Kogel und von Alten 2001) sowie systemisch **aktivierte Resistenz** (SAR) verwendet. Die HR ist eine der ersten Reaktionen der Pflanzenzelle nach einer Pathogenerkennung in einer inkompatiblen Wirt-Pathogen-Interaktion. Nach Akkumulation von Melanin, Tannin sowie Phytoalexinen führt diese zur Nekrotisierung und schließlich zum Tod der angegriffenen Pflanzenzelle sowie des Pathogens. Der Begriff *oxidative burst* umschreibt einen Vorgang, bei dem es in der infizierten Zelle oft nach Ionenfluss zu einer Freisetzung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS; O<sub>2</sub>, HO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) kommt, wodurch ebenfalls ein hypersensitiver Zelltod verursacht werden kann (Peltonen 1999). SAR beschreibt Abwehrmechanismen der Pflanzen, welche durch Signalstoffe (z.B. Salicylsäure) aktiviert werden (Kogel et al. 1998).

Die Resistenz von Gerste gegen Netzfleckenkrankheit beruht nach Jorgensen et al. (1998) auf dem Mechanismus der induzierten Resistenz (IR), welche als „Steigerung der natürlichen Abwehrkräfte einer Pflanze ohne Veränderung ihrer genetischen Konstitution“ beschrieben wird (Schönbeck et al. 1993). Als frühe Abwehrreaktion (*early defense reaction*) auf eine Penetration durch *P. teres* wird die Bildung von fluoreszierenden Papillen in den infizierten Zellen beschrieben, welche ein weiteres Eindringen des Pilzes verhindern. Im Verlauf der Infektion mit *P. teres* konnten Jorgensen et al. (1998) an den infizierten Blättern die Bildung von speziellen fluoreszierenden Epidermiszellen beobachten. Diese treten häufig zum Zeitpunkt der Entwicklung von Infektionsvesikeln und intrazellulären Hyphen des Pathogens auf und können deren weitere Entwicklung unterbinden.

Das aus mit *P. teres* infizierten Gerstenblättern isolierte und klonierte PTK1-Gen, ein *mitogen-activated protein kinase* Gen (MAPK), weist eine hohe Homologie mit MAPK's aus anderen phytopathogenen Pilzen auf, welche unter anderem für zelluläre Signaltransduktion, Zellwandbiosynthese, Osmoregulation sowie für Wachstum und Differenzierungsvorgänge nötig sind. PTK1 spielt eine bedeutsame Rolle in der Pathogenese von *P. teres*. Bei Fehlern in der



Genexpression von PTK1 ist das Pathogen nicht mehr in der Lage, Konidien und Appressorien zu formieren (Ruiz-Roldan et al. 2001).

In der Arbeit von Rothe et al. (1998) konnten aus mit *P. teres* infizierten Gerstenblättern drei verschiedene Peroxidase Isoenzyme isoliert werden, welche die Zersetzung von H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalysieren (*oxidative burst*). Die Beteiligung dieser Enzyme an der Synthese von Suberin und Lignin lässt eine IR in der Interaktion zwischen resistenten Gerstenpflanzen und dem Erreger der Netzfleckenkrankheit vermuten. Darüber hinaus wird bei einer Infektion mit dem Phytopathogen die Induktion der Hydrolyse von  $\beta$ -1,3-Glukanase 1 beschrieben. Dieses verursacht, genauso wie die Bildung von Chitinasen, eine Degeneration der pilzlichen Zellwand. Diese Enzyme werden zu den pathogenesis-related (PR) Proteinen gezählt.

Reiss (2003) konnte aus infizierten Gerstenblättern Gensequenzen der Translation bestimmter Thaumatin-ähnlicher Proteine (TLP5, PR-5 Proteine) in der Gersten EST-Datenbank (Gatersleben) wiederfinden. Dies deutet darauf hin, dass Abwehrproteine (PR-Proteine) von der Gerstenpflanze selber synthetisiert werden.

### **1.6 Aktueller Stand der Lokalisation der Resistenz gegen Netzflecken an Gerste**

Verschiedene Gerstensorten und -linien wurden in den letzten Jahrzehnten hinsichtlich ihrer Resistenz gegen die Netzfleckenkrankheit untersucht. Die Ergebnisse unterstützen die Annahme, dass diese Resistenz von ein bis mehreren Genen bestimmt werden kann und accession- und isolatabhängig ist.

Im Jahre 1955 führt Schaller die Resistenz gegen die Netzfleckenkrankheit an Gerste in der Sorte Tifang auf ein einzelnes unvollständiges dominantes Genpaar zurück und bezeichnet dieses mit „Pt“. Douglas und Gordon (1985) beschreiben an Hand ihrer Untersuchungen von 5 Gerstengenotypen (Zephyr, Hassan, Mata, Kaniere und Manchuria) ebenfalls die Resistenz gegen *Drechslera teres* als partielle Dominanz. Überdies wird von additiven Effekten (Arabi et al. 1990; Cherif und Harrabi 1990b), additiv x additiv epistatischen Effekten (Cherif und Harrabi 1990a) sowie von quantitativer Resistenz (Arabi et al. 1990; Robinson und Jalli 1997; Steffenson und Webster 1992) berichtet.

Bisher sind verschiedenste Loci der Resistenzgene beschrieben worden. Bockelman et al. (1977) finden ebenso wie Schaller (1955) in der Sorte Tifang in einer Trisomic Analyse ein einzelnes Resistenzgen, Rpt1a, und lokalisierten dieses auf Chromosom 3 (3H). Ein weiteres einzelnes Resistenzgen, Rpt3d, beschreiben sie in der Gerstenform C.I. 7584, welches jedoch Chromosom 2 (2H) zugeordnet wird. Hingegen detektieren sie in der Gerstenform C.I. 9819 zwei verschiedene Resistenz-Gene, Rpt1b (3H) und Rpt2c (1H). In einer RFLP-

Analyse der Kreuzung Igri x Franka mit 283 Pflanzen wird ebenfalls ein einzelnes dominantes Resistenzgen, *Pt<sub>1,a</sub>*, auf Chromosom 3H (cMWG680) ermittelt (Graner et al. 1996). In Gegensatz dazu werden in der Kreuzung Streptoe x Morex für die Keimlingsresistenz ein QTL (Quantitative trait locus) auf Chromosom 4H und zwei auf Chromosom 6H sowie für die Resistenz älterer Pflanzen sieben verschiedene QTLs auf Chromosom 2H, 3H (2 QTLs), 4H, 5H, 6H und 7H detektiert (Steffenson et al. 1996). Auf Chromosom 6H wird gleichfalls ein dominantes Majorgen mit Hilfe von *BARE-1* retrotransposon Markern in einer Antherenkultur-Nachkommenschaft mit 200 Pflanzen identifiziert (Manninen et al. 2000). In einer Studie mit einer DH-Population unbekanntem Umfangs werden zwei Amplifikationsprodukte mit dem SSR-Marker Bmac0213 auf Chromosom 1H identifiziert, mit deren Hilfe resistente von anfälligen Gerstenpflanzen unterschieden werden können (Kopahnke und Saker 2002).

Unterschiedliche Resistenzverhalten werden nicht nur zwischen verschiedenen Accessionen und Isolaten, sondern auch zwischen Keimling und späteren Wachstumsstadien einer Pflanze festgestellt (Douiyssi et al. 1998; Tekauz 1986). Richter et al. (1998) beschreiben unterschiedliche QTLs für die Resistenz bei inokulierten ersten und zweiten Blättern einer F<sub>2</sub>-Population mit 866 Pflanzen. Die Analyse basiert auf RFLP-Markern. Bei einer Auswertung dieser Ergebnisse mit dem Programm MAPMAKER/QTL sind, unabhängig von den Boniturzeitpunkten, der Resistenz des ersten Blattes insgesamt sechs QTLs auf Chromosom 6H zugeordnet, der Resistenz des zweiten Blattes je ein QTL auf 2H, 3H und 4H. Dagegen beschreiben (Douglas und Gordon 1985) eine starke Ähnlichkeit zwischen den Ergebnissen der ersten und zweiten Gerstenblätter.

In einer AFLP- und SSR-Markeranalyse mit zwei Doppelhaploiden-Populationen mit ca. 180 Pflanzen zeigen sich auf 2H (Region EBmac0623), 3H (Region p11m47) und 6H (Region Bmac0173) Marker mit einer starken Assoziation zu der quantitativen Resistenz gegen *P. teres*. Eine anschließende Verifizierung der gefundenen signifikanten Markern auf 6H in zwei weiteren Doppelhaploiden-Populationen mit je 300 Pflanzen kann den SSR-Marker Bmag0173 als hochsignifikant bestätigen (Cakir et al. 2003).

Viele der oben aufgeführten Untersuchungen zur Resistenz gegen Netzflecken an Gerste beziehen sich auf Gruppen einzelner Sorten und Gerstenformen. Die Anzahl der untersuchten Populationsumfänge liegt, mit Ausnahme der von Richter et al. (1998) verwendeten Population mit 866 Pflanzen, nur bei 180-300 getesteten Pflanzen. Die meisten dieser Arbeiten beruhen auf RFLP- oder AFLP-Analysen. SSR-Marker fanden bisher nur geringen Einsatz zur Detektion von Resistenzgenen gegen Netzflecken an Gerste.

### 1.7 Ziel dieser Arbeit

In der vorliegenden Arbeit wurde eine bisher unbekannte Resistenzquelle aus Wildgerstenmaterial (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) gegen den Erreger *Drechslera teres* forma *teres* untersucht. Ziel der Untersuchung war zum einen die Bestätigung der polygenen Vererbung dieser Resistenz, von welcher zu Beginn der Arbeit auf Grund der Literatur ausgegangen wurde. Zum anderen sollte bei dem Nachweis einer quantitativen Resistenz der Frage nach dem Vorliegen von epistatischen Effekten nachgegangen werden. Bei der Detektion von QRL (*Quantitative resistance loci*) für die Resistenz gegen *P. teres* war es ein weiteres Ziel SSR-Marker für eine markergestützte Selektion zu lokalisieren.

Das Verfahren der *Bulked segregant analysis* wurde von Michelmore et al. (1991) an einem qualitativen Merkmal entwickelt. Die Anwendung dieses Verfahrens in der vorliegenden Arbeit sollte Erkenntnisse über dessen Einsatz zur Analyse quantitativer Merkmale ergeben.

Unter der Verwendung von *in vitro* Resistenztestungen mit nachfolgenden SSR-Marker-Analysen erfolgt die Datenerhebung in einer spaltenden Population mit 800 Pflanzen sowie in drei spaltenden Verifikationspopulationen mit je 200 Pflanzen.

Die Bearbeitung kann in vier Phasen unterteilt werden:

1. *in vitro* Resistenztestung einer BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Testpopulation, aus welcher nach dem Verfahren der *Bulked segregant analysis* zwei Extrema-Gruppen mit je ca. 15 % der Testpopulation mittels SSR-Marker genotypisiert und statistisch ausgewertet wurden;
2. Genotypisierung der gesamten Testpopulation mittels der SSR-Marker, welche in der statistischen Verrechnung aus der ersten Arbeitsphase Hinweise auf putative QRL ergaben;
3. *in vitro* Resistenztestung und Genotypisierung von drei Verifikationspopulationen mit den SSR-Markern aus der zweiten Arbeitsphase;
4. QRL-Analysen.

## 2. Material und Methoden

In diesem Kapitel werden das Material und die Methoden beschrieben, welche für die Resistenztestungen, die molekularbiologischen Arbeiten sowie für die statistischen Verrechnungen verwendet wurden.

### 2.1 Pflanzenmaterial

Bei den in der vorliegenden Arbeit verwendeten Pflanzenmaterialien handelt es sich um Kreuzungs- oder Rückkreuzungslinien aus vier verschiedenen zweizeiligen Sommergerstensorten (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) mit einer aus Israel stammenden Wildgerstenform BGRC 41923 (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) (s. Tab. 2.1). Diese Wildgerstenform wird zur Vereinfachung im weiteren Verlauf dieser Arbeit mit 41923 bezeichnet.

**Tab. 2.1:** Übersicht der verwendeten Gerstensorten (Quelle: Beschreibende Sortenliste des Bundessortenamtes 1985 und 2002) sowie der Wildgerstenlinie, die als Eltern der in dieser Arbeit verwendeten Kreuzungen dienten

Sorte	Züchter/Kollektor	Jahr der Zulassung	Abstammung bzw. Herkunft
Arena	Schweiger & Sohn, Feldkirchen/Moosburg	1983	Amethyst x Aufhammer 39/68
Berolina	H.U. Hege, Waldenburg	1984	Medina x Trumpf
Golf	Nickerson, Edemissen	1982	(Armelle x Lud) x Luke
Pasadena	Lochow-Petkus, Bergen	1998	Marina x Krona
BGRC 41923 (Wildgerstenlinie)	BAZ Genbank, Braunschweig		Israel

Der Wildelter 41923 der hier verwendeten Kreuzungen erwies sich in Versuchen einer Arbeitsgruppe der Universität Kiel mit zehn verschiedenen Wildgerstenformen durch seine hohe Resistenz gegenüber dem Erreger *P. teres* als besonders geeignet für diese Untersuchungen. In den Versuchen der Universität Kiel wurde das *P. teres* Isolat 04/6T verwendet (K. Richter, pers. Mitt.). Dieses stand für die vorliegende Arbeit nicht mehr zur Verfügung.

Die verwendeten BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Populationen wurden am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Kiel unter der Leitung von Herrn Prof. Léon erstellt. Aus Gründen der Aktualität wurde der Wildelter 41923, zusätzlich zu den schon vorhandenen Kreuzungen der Sorten Arena, Berolina sowie Golf, mit der erst seit 1998 zugelassenen Sommergerstensorte Pasadena gekreuzt und bis zur F<sub>2</sub>-Generation fortgeführt. In Tab. 2.2 ist

die Anzahl der Pflanzen der einzelnen Kreuzungen aufgeführt, welche in der Resistenztestung geprüft wurden.

**Tab. 2.2:** Übersicht der Kreuzungen mit Angabe der Anzahl ihrer BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>- bzw. F<sub>1</sub>-Pflanzenabstammung und der jeweiligen Anzahl der ausgesäten sowie der resistenzgetesteten Körner

Kulturelter	Wildelter	Generation	Anzahl BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> -Pflanzen	ausgesäte Körner der BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	Anzahl gekeimter und resistenzgetesteter BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Körner
Arena	41923	BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	16	807	636
Berolina	41923	BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	22	200	174
Golf	41923	BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	9	200	154
			Anzahl F <sub>1</sub> -Pflanzen	ausgesäte Körner der F <sub>2</sub>	Anzahl gekeimter und resistenzgetesteter F <sub>2</sub> -Körner
Pasadena	41923	F <sub>2</sub>	9	200	167

## 2.2 Pilzmaterial

Für die vorliegende Arbeit wurde ein Isolat des Erregers der Netzfleckenkrankheit an Gerste ausgewählt. Es handelt sich um ein Isolat des Netztyps, *Drechslera teres* forma *teres* (s. Kap. 1.3). Zur Auswahl standen drei Einspor-Isolate (s. Tab. 2.3), welche in einem Vorversuch auf ihre Pathogenität im Bezug zu den Kreuzungeltern getestet wurden. In der Untersuchung von neun Netzflecken-Isolaten zur Identifizierung und Charakterisierung von *P. teres* zeigte das Isolat ReAm die höchste Aggressivität und die signifikant höchsten Xylanase- und Zellulaseaktivitäten (Nachtigall et al. 1995), welche für die Pathogenität entscheidend sind. Über die entsprechenden Eigenschaften der anderen beiden Isolate standen keine Daten zur Verfügung.

**Tab. 2.3:** Übersicht der Auswahl an *Drechslera teres*-Einspor-Isolaten und ihre Herkunft

Isolat	Zur Verfügung gestellt von:
ReAm (Reisolat Amelung)	Dr. Kopahnke, BAZ Aschersleben
67/1	Dr. Sachs, BBA Braunschweig
65/2	Dr. Sachs, BBA Braunschweig

### 2.2.1 Kultivierung

Zur optimalen Kultivierung der drei *Drechslera teres*-Isolate wurden verschiedene Nährmedien hinsichtlich des Wachstumsverhaltens und der Konidienbildung getestet. Die Vollnährmedien wiesen eine positive Wirkung auf das Mycelwachstum des Pilzes auf. Nährstoffarme Nährmedien dagegen eigneten sich vorrangig zur Konidienbildung.

#### Vollnährmedien:

##### **Tomatenmark-Agar mit CaCO<sub>3</sub>** (nach Al-Tikrity 1987)

Tomatenmark	20 g
CaCO <sub>3</sub>	3-6 g
Agar	13 g
H <sub>2</sub> O <sub>dest.</sub>	1 l

Der Pilz wurde bei Raumtemperatur für circa ein bis zwei Wochen inkubiert. Von den vollständig mit Mycel zugewachsenen Nährmedien erfolgte eine Überimpfung von kleinen Agarstücken auf steriles, leicht angefeuchtetes Filterpapier in Petrischalen. Diese wurden mit Parafilm verschlossen und bis zur Sporulation im Dunkeln bei ca. 21 °C aufbewahrt.

##### **PDA (Potato Dextrose Agar)**

Fertigprodukt der Firma Difco

##### **PDA 3+ (Potato Dextrose Agar)**

Fertigprodukt der Firma Difco

Penicillin	50 mg/l
Streptomycin	50 mg/l
Tetracyclin	50 mg/l

Herstellung des Fertigproduktes der Firma Difco (PDA) unter Zugabe von Antibiotika nach dem Autoklavieren ab einer Temperatur des flüssigen Agars von ca. 50 °C.

##### **Hafermehl-Agar**

Instant Haferflocken (Firma Kölln)	7,5 g
Agar	5,0 g
H <sub>2</sub> O <sub>dest.</sub>	300 ml

**V<sub>8</sub>-Gemüsesaft-Agar (20 %)**

Gemüsesaft (Firma Krings)	150 ml
CaCO <sub>3</sub>	2,25 g
Agar	15,0 g
H <sub>2</sub> O <sub>bidest.</sub>	600 ml

**Karotten-Kartoffel-Agar**

Je 20 g geriebene Kartoffeln und Karotten wurden in 1 l Leitungswasser für 20 min gekocht, filtriert und anschließend mit Leitungswasser auf 1 l aufgefüllt. Diese Lösung wurde nach der Zugabe von 20 g/l Agar autoklaviert.

**Nährstoffarme Nährmedien:****Leitungswasser-Agar**

20 g	Agar
1 l	Leitungswasser

**SNA (synthetischer nährstoffarmer Agar, nach Struss und Plieske 1998)**

1 g	KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>
1 g	KNO <sub>3</sub>
0,5 g	MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O
0,5 g	KCl
0,2 g	Glucose
0,2 g	Saccharose
20 g	Agar
1 l	H <sub>2</sub> O <sub>bidest.</sub>

**Karotten-Kartoffel-Agar (20 % oder 10 %)**

Je 20 g geriebene Kartoffeln und Karotten wurden in 1 l Leitungswasser 20 min gekocht, filtriert und danach mit Leitungswasser auf 1 l aufgefüllt. 200 ml (bzw. 100 ml) dieser Lösung wurden mit 800 ml (bzw. 900 ml) H<sub>2</sub>O<sub>dest.</sub> und 20 g Agar zur Herstellung des Nährmediums autoklaviert.

**V<sub>8</sub>-Gemüsesaft-Agar (10 %)**

Gemüsesaft (Firma Krings)	100 ml
CaCO <sub>3</sub>	3 g
Agar	20 g
H <sub>2</sub> O <sub>dest.</sub>	900 ml

Das PDA 3+ -Medium eignet sich besonders zur Kultivierung von Reisolaten, da durch den Zusatz von Antibiotika ein unerwünschtes Bakterienwachstum verhindert wird.

Um die Pathogenität des *D. teres*-Isolates zu erhalten, wurde neben dem Überimpfen auf Nährmedien regelmäßig das *D. teres*-Isolat auf frische Gerstenblätter als Wirtspassage übertragen. Hierzu wurden frisch abgeschnittene Gerstenblätter in 75 % Ethanol getaucht, auf Leitungswasseragar gelegt und mit einer Konidien suspension infiziert. Diesem Agar wurde zur längeren Grünerhaltung der Blattstücke Benzimidazol zugefügt.

### **2.2.2 Sporulation des Pathogens sowie Inokulum-Herstellung**

Die mit den verschiedenen Isolaten beimpften Nährmedienvarianten wurden bei zwei verschiedenen Umweltbedingungen inkubiert. Zum einen bei 19 °C (+/- 1 °C) und 16 h Licht (Osram Fluora®) in einem isolierten Raum und zum anderen bei ca. 22 °C ohne zusätzliche Beleuchtungsquelle in einem Raum des Institutes.

Zur Herstellung von Inokulum für die Resistenztests wurden solche Petrischalen ausgewählt, auf denen eine deutliche Konidienbildung mittels Binokular sichtbar war. Diese wurden mit ca. 1-2 ml Wasser benetzt, welches mit einem Tropfen Tween20 pro 800 ml autoklavierten Wassers versetzt wurde. Die Konidien-Kolonien wurden vorsichtig mit einem Gummispachtel in Lösung gebracht. Diese Suspension wurde durch ein dreilagiges Mulltuch gefiltert, um das Pilzmycel von den Konidien zu trennen. Mit Hilfe einer Fuchs-Rosenthal-Zählkammer wurde das Inokulum auf 5.000 Konidien/ml eingestellt.

### **2.2.3 Auswahl eines Isolates**

Für die Auswahl eines geeigneten *D. teres*-Isolates wurden mehrere abgeschnittene Blätter der Kultureltern (Arena, Berolina und Golf, s. Tab. 2.1 und Tab. 2.2) sowie des Wildelters 41923 mit den drei verschiedenen *D. teres*-Isolaten (s. Tab. 2.3) inokuliert. Durch eine anschließende Bonitur des prozentualen Befalls der Blattfläche (Befallsstärke) wurde ein Isolat ausgewählt, welches bei den Kultureltern eine hohe Anfälligkeit und bei dem Wildelter eine geringe Anfälligkeit zeigte. Die Methode der Inokulation wird in Kapitel 2.3.2 näher beschrieben.



## 2.3 Resistenztestung

Die *in vitro* Resistenztestungen wurden einerseits zur Auswahl eines aus den drei zur Verfügung gestandenen Isolaten (ReAm, 67/1, 65/2), sowie zur Auswahl einer der vier Kultureltern (Arena, Berolina, Golf) für die Testpopulation eingesetzt. Andererseits wurden mittels *in vitro* Resistenztestungen die Pflanzen der Testpopulation sowie der drei Verifikationspopulationen auf ihre Anfälligkeit hinsichtlich einer Infektion mit dem Erreger *P. teres* untersucht.

### 2.3.1 Anzucht und Probennahme des Pflanzenmaterials

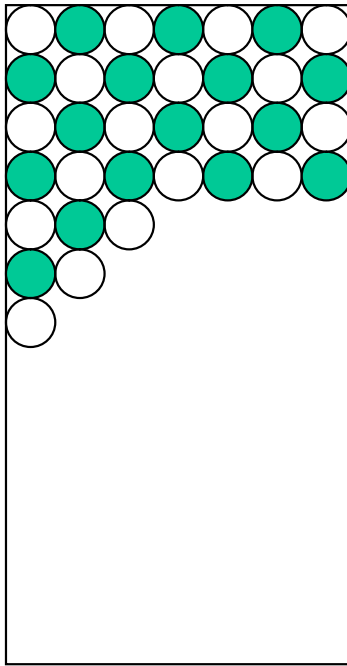
Zur Stratifizierung wurde das Saatgut für ca. 1 Woche in mit feuchtem Filterpapier ausgelegten Petrischalen bei 4 °C gelagert. Die „Aussaat“ bzw. Pflanzung erfolgte, wenn sich die Keimwurzeln entwickelt hatten und die Koleoptile erkennbar war. Je nach Zweck der Pflanzenverwendung sind verschiedene Varianten der Anzucht eingesetzt worden:

A) *für die Resistenztestung zur Auswahl eines Isolates und zur Auswahl eines Kulturelterns der Testpopulation*

wurden die Gerstenpflanzen bis zum Dreiblattstadium kultiviert. Dazu erfolgte die Auspflanzung der vorgekeimten Gerstenkörner in mit Einheitserde Typ T befüllten 96er Quick-Pot-Platten.

B) *für die Resistenztestung der Pflanzen*

erfolgte die Auspflanzung der vorgekeimten Gerstenkörner nach der Stratifizierung in Kunststoffröhren mit einem Durchmesser von 4 cm. Diese Röhren waren am unteren Ende mit Schaumstoff versehen, der dem einfacheren Befüllen und der optimalen Wasseraufnahme diene. Das Wurzelsubstrat bestand aus einem Sand-Lehm-Gemisch versetzt mit einem Depot-Dünger (Entec® 14-7-17 (N-P-K), 3 kg/m<sup>3</sup>). Die Anordnung der bepflanzten Röhren in den Gewächshauswagen ergab eine Bestandesdichte von 150 Pfl./m<sup>2</sup> (s. Abb. 2.1). Über diesen wurden zusätzliche Lichtquellen (400 W, 12-14 h/d) angebracht. Da sich die Umgebungstemperatur nachts auf 2-10 °C absenkte, wurden die Wärmequellen unter den Wagen mit Folie von den Wagenaußenwänden bis zum Boden hin abgedichtet. Damit wurde eine bessere Verteilung der Wärme unter den Wagen erreicht und gleichzeitig ein Schutz gegen Mäuse gewährleistet. Tagsüber betrug die Temperatur im Vegetationsverlauf über 7 Monate in Abhängigkeit von Außentemperatur und Sonneneinstrahlung 15-25 °C.



**Abb. 2.1:** Anlage der Kunststoffröhren in den Gewächshauswagen zur Kultivierung der Pflanzen der Testpopulation;  
● bepflanzte Röhre,  
○ leere Röhre.

Die Ernte der Pflanzen gliederte sich in drei Abschnitte:

- (1) Resistenztestung:  
das zweite und dritte Blatt jeder Pflanze
- (2) DNA-Extraktion:  
ca. 5 jüngere Blätter, welche bis zur DNA-Extrahierung bei -20 °C gelagert wurden
- (3) Saatgutgewinnung

### 2.3.2 Aufbau und Durchführung der Resistenz-Testung

Für die in dieser Arbeit angewendete Methode der *in vitro* Resistenztestung (in Anlehnung an das etablierte Verfahren der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Kopahnke, BAZ Aschersleben) wurden abgeschnittene Blätter (das zweite und dritte Blatt) zwischen Klebebändern in einer Reihe befestigt. Die überstehenden Blattenden wurden gleichmäßig abgeschnitten und die Schnittflächen in Tücher gebettet. Diese wurden dann zusammen in biologische Testschalen (Plastikschalen mit Deckel, Innenmaß 22 x 22 cm) gelegt und die Tücher mit Leitungswasser befeuchtet. Zur längeren Grünerhaltung der Blätter wurde in Anlehnung an Hartleb und Opel (1987) das Leitungswasser mit Benzimidazol (60 ppm) versetzt.

Zur gleichmäßigen Inokulation wurden die mit je zwei Blattreihen belegten Schalen auf eine sich mit 33 U/min drehenden Oberfläche platziert. Mittels einer Küvette, welche an einem Stativ befestigt war, wurden die sich bewegenden Schalen mit dem Inokulum (s. 2.2.2) besprüht. Die Küvette wurde an einen Kompressor angeschlossen, um den nötigen gleichmäßigen Druck für den Inokulationsvorgang sicherzustellen. Die Inokulummenge betrug ca. 3 ml pro Schale.

Bei gleicher Durchführungsmethode der Resistenztestung (s.o.) sind zwei verschiedene Anordnungen der Blätter in den Schalen gewählt worden:

a) Resistenztestung zur Auswahl des Kulturelterers und des Isolates:

Pro Reihe wurden 4 Blätter jeder Sorte (Arena, Berolina, Golf) und 4 Blätter der Wildform 41923 ausgelegt (=> pro Schale in zwei Reihen => (4 x 4) x 2 Blätter); Insgesamt sind vier Resistenztestungen durchgeführt worden. In jedem Versuchsdurchlauf wurden alle drei Isolate mit je 12 Pflanzen jeder Sorte sowie der Wildform 41923 getestet.

b) Resistenztestungen der Testpopulation und der drei Verifikationspopulationen:

Pro Schale wurden das zweite und dritte Blatt des Wildelers sowie des Kulturelterers und jeweils das zweite und dritte Blatt von 15 bis 16 Testpflanzen (BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen bzw. F<sub>2</sub>-Pflanzen) miteinander verglichen.

In der anschließenden Inkubationsphase wurden die Schalen aus a) und b) bei ca. 16-18 °C und einer rel. Luftfeuchte von 100 % ca. 48 h gelagert. Die 100 %ige Luftfeuchte wurde durch Einwickeln der Schalen in feuchte Tücher und zusätzliches Verpacken in Plastiktüten erzeugt. Hierdurch wurde die Keimung der *D. teres*-Konidien begünstigt.

Im Anschluss an die Inkubationsphase wurden die Schalen in einem isolierten Raum bei ca. 20 °C und Lichtphasen von 16 h/Tag (Osram Fluora®) gestellt, um die weitere Entwicklung des Pilzes auf der Blattfläche zu fördern.

### **2.3.3 Auswertung der Resistenz-Testung**

Die nach der Inokulation durch den Erreger der Netzfleckenkrankheit hervorgerufenen Symptome wurden in erster Linie über den prozentualen Befall des Blattes von 0-100 %, der Befallsstärke, bewertet. Neben diesem Merkmal waren Unterschiede hinsichtlich der Ausprägung der Symptome (TYP) bonitiert worden, um eine mögliche Korrelation zwischen diesem Merkmal und der Befallsstärke zu beurteilen.

Für die visuelle Auswertung der Befallsstärke pro Blattfläche stand als Hilfsmittel das Computer-Programm „Estimate“ (Version 1.00, Gerhard Weber software) zur Verfügung, mit dem im Vorfeld eine Kalibrierung der Bonituarbeit ermöglicht wurde. Die Typenklassen reichen von 1=befallsfrei über 3=feine nekrotische Striche, 5=braune Netzsymptome ohne Vergilbung, 7=größere Nekrosen mit chlorotischem Hof bis zu 9=vollständigen Vergilbung des Blattes mit großflächigen Läsionen (in Anlehnung an Tekauz 1985). Die Auswertung erfolgte 5, 7 und 9 dpi (days post inoculation = Tage nach der Inokulation).

## 2.4 DNA-Extraktion

Für die Extraktion der DNA der einzelnen Gersten-Pflanzen wurden zwei unterschiedliche Methoden eingesetzt. Bei der DNA-Extraktion der 636 Pflanzen der Testpopulation (Arena x 41923) wurde die MaxiPrep-Methode (s. 2.4.1) in Anlehnung an das CTAB-Protokoll von Saghai-Marooof et al. (1984) angewandt, um den großen Bedarf an DNA-Template für die Genotypisierung mit den polymorphen Markern zu decken.

Die DNA-Extraktion der Pflanzen der Verifikationspopulationen (Berolina, Golf und Pasadena mit dem Wildelter 41923) erfolgte mittels der ExpressPrep-Methode (s. 2.4.2) unter Verwendung eines CRUSHexpress (Saaten-Union Resistenzlabor, Leopoldshöhe). Diese Technik lieferte eine geringe Ausbeute an DNA, die jedoch für die Analysen der Verifikationspopulationen ausreichend war. Der Vorteil dieser Methode ist in der enormen Zeitersparnis zu sehen. Für beide Methoden wurden die folgenden Extraktionspuffer verwendet:

### **Sorbitol-Puffer 1 (pH 7,5)**

350 mM	Sorbitol	127,50 g
100 mM	Tris	24,20 g
5 mM	EDTA	3,36 g
	H <sub>2</sub> O <sub>dest.</sub>	ad 2 l

Bis zur Verwendung wird dieser Puffer bei 4 °C gelagert.

### **Sorbitol-Puffer 2 (pH 7,5)**

Je Probe (5-7 Gerstenblätter) wurden kurz vor Gebrauch 150 ml Sorbitolpuffer 1 mit 0,8 g Natriumbisulfit versetzt und weiterhin bei ca. 4 °C gekühlt.

### **Kernlyse-Puffer**

200 mM	Tris	121,14 g
50 mM	EDTA	93,06 g
2 M	NaCl	584,40 g
2 %	CTAB	100,00 g
	H <sub>2</sub> O <sub>dest.</sub>	ad 5 l

### **Laurylsarkosin-Lösung (5 %)**

Laurylsarkosin	25 g
H <sub>2</sub> O <sub>dest.</sub>	ad 500 ml

**Chloroform/Isoamylalkohol-Lösung (24:1)**

Chloroform	960 ml
Isoamylalkohol	40 ml

**Mikroprep-Puffer (100 ml)**

Sorbitol-Puffer 1	42 ml
Kernlyse-Puffer	42 ml
Laurylsarkosin-Lösung (5 %)	16 ml
Natriumbisulfit	800 mg

**2.4.1 MaxiPrep-Methode**

Für die Markeranalyse wurde mittels der MaxiPrep-Methode von jeder Pflanze der Testpopulation DNA extrahiert. Dazu wurde von jeder auf Resistenz getesteten Pflanze der Kreuzung Arena x 41923 ca. 5 relativ junge Blätter gesammelt und bei  $-20\text{ °C}$  bis zur Weiterbearbeitung gelagert.

Zu Beginn der DNA-Extraktion wurde das Blattmaterial mit 15 ml kaltem Sorbitol-Puffer 2 versetzt und mit einem Ultrathurrax homogenisiert. Anschließend wurden die groben Bestandteile dieses Homogenisats mit Hilfe eines Mulltuches abgetrennt und das Filtrat 20 min bei 5.000 U/min und  $4\text{ °C}$  (Heraeus Variofuge 3.0 R) zentrifugiert. Der Überstand wurde verworfen und das Pellet in 2,5 ml gekühltem Sorbitol-Puffer 2 rückgelöst. Dieses Gemisch wurde zuerst mit 2,5 ml Kernlyse-Puffer und 1 ml Laurylsarkosin-Lösung (5 %) versetzt, bei ca.  $60\text{ °C}$  für ca. 50 min geschüttelt und anschließend mit 6 ml Chloroform/Isoamylalkohol-Lösung (24:1) versetzt. Danach wurden die Gefäße bei Raumtemperatur 10 min vorsichtig per Hand geschüttelt. Nach einer weiteren Zentrifugation über 30 min bei 5.000 U/min und  $4\text{ °C}$  (Heraeus Variofuge 3.0 R) wurde die obere wässrige Phase, welche die gelöste DNA enthält, abpipettiert. Nach der Fällung der DNA mittels eisgekühltem Isopropanol im Verhältnis 1:1 und anschließender Reinigung mit eisgekühltem Ethanol (70 %) wurde die in Wasser rückgelöste DNA bei  $-20\text{ °C}$  gelagert.

**2.4.2 ExpressPrep-Methode**

Bei der ExpressPrep-Methode zur DNA-Extraktion wurden kleine ausgestanzte Blattstücke in *Deep well*-Platten (96 wells à 1,2 ml, ABGene, Hamburg) überführt und bei  $-20\text{ °C}$  bis zur Extraktion gelagert. Zu Beginn der Extraktion wurde zur besseren Homogenisation feiner Quarzsand zu jeder Probe gefüllt und mit  $42\text{ }\mu\text{l}$  Sorbitol-Puffer 2 versetzt. Die Homogenisation des Blattmaterials fand mit Hilfe eines CRUSHexpress (Saaten-Union Resistenzlabor, Leopoldshöhe) statt. Zwischen dem dreimaligen Homogenisieren

à 5 min wurden die *Deep well*-Platten jeweils 2 min bei 3.000 U/min (Heraeus Labofuge 400) zentrifugiert, um die Proben auf dem Boden der Gefäße zu sammeln. Vor der Inkubation bei 60 °C für 30-60 min wurden 42 µl Kernlyse-Puffer und 16 µl Laurylsarkosin-Lösung (5 %) zugegeben, anschließend die Platten gut verschlossen und ca. 1 min vortexiert.

Im Anschluss an die Inkubation erfolgte die Proteinfällung durch Zugabe von 150 µl Chloroform/Isoamylalkohol-Lösung (24:1) und nachfolgendem leichtem vortexieren für 2 min. Nach Zugabe von 250 µl Mikroprep-Puffer und kurzem vortexieren der *Deep well*-Platten wurden diese 30 min bei 3.000 U/min (Heraeus Labofuge 400) zentrifugiert. Von der oberen wässrigen Phase wurden 100 µl mit einer Mehrkanalpipette in *Deep well*-Platten überführt, welche mit je 100 µl/well eiskaltem Isopropanol befüllt wurden. Anschließend wurde die Lösung viermal vorsichtig invertiert. Durch die folgende 30 minütige Zentrifugation bei 3.000 U/min (Heraeus Labofuge 400) setzte sich die DNA am Boden der Gefäße ab, so dass der Überstand sofort großzügig abgeschüttet werden konnte. Dieser Vorgang des Zentrifugierens und Abschüttens wurde nach Waschung der Pellets mit 100 µl eisgekühltem Ethanol (70 %) wiederholt. Die offenen Platten mit dem sauberen DNA-Pellet wurden 40-50 min bei 60 °C getrocknet. Zur Lösung der trockenen extrahierten DNA wurden je 50 µl autoklaviertes H<sub>2</sub>O *bidest.* zugegeben und die Platten über Nacht bei 4 °C gelagert.

## 2.5 Kontrolle der DNA-Extraktion im Agarose-Gel

In einem Agarose-Gel (1 %) wurde die Konzentration und Qualität der extrahierten DNA aus den Gerstenblättern überprüft.

Für die Herstellung dieses Gels wurden 2 g Agarose in 200 ml 1 x TAE-Puffer (s.u.) in der Mikrowelle für 4 min erhitzt. Nach Abkühlung der klaren Lösung auf ca. 50 °C wurden 10 µl (10 mg/ml) Ethidiumbromidlösung hinzu pipettiert und vorsichtig durch leichtes Schwenken gemischt. Das flüssige Gel wurde zum Aushärten in Schalen gegossen und mittels eingesetzter Kämme jeweils 90 Probestaschen hergestellt.

### \* 50 x TAE-Puffer (pH 8,0)

2 M	Tris/HCl	242,28 g
50 mM	EDTA	18,61 g
1 M	Essigsäure	63,05 ml
	H <sub>2</sub> O <i>bidest.</i>	Ad 1.000 ml

Um die Konzentration der extrahierten DNA-Proben zu bestimmen wurden 5 µl unverdünnter Lösung sowie 5 µl 1:20 verdünnter Lösung verwendet. Zum Beschweren und Anfärben wurden die Proben vor dem Auftrag ins Gel mit einer Stopplösung (40 ml 1 x TAE-

Puffer, 40 ml Glycerol, 10 mg Bromphenolblau) versetzt. Die Auswertung erfolgte mittels UV-Licht, welches eine Fluoreszierung des in die DNA eingelagerten Ethidiumbromids verursachte. Über eine Videokamera (Gel Doc 100, BIO-RAD) und einen UV-Transilluminator (Gel Doc 1000, BIO-RAD) konnten die Elektrophorese-Ergebnisse auf den Bildschirm eines PC's übertragen werden. Das Programm Molecular Analyst (BIO-RAD) ermöglichte die Auswertung der Qualität sowie die visuelle Einschätzung der ungefähren Konzentration der extrahierten DNA.

## 2.6 SSR-Marker-Analyse

Die in der vorliegenden Arbeit verwendeten SSR-Marker stammten aus den Arbeiten von Ramsay et al. (2000), Pillen et al. (2000) und Waugh et al. (1997). Ihre Anwendung fand in zwei verschiedenen technischen Systemen statt. Die Mehrzahl der Genotypisierungen erfolgte unter Verwendung von Elektrophoresekammern (S2-Kammer, Life Technologies). Hierbei wurden die elektrophoretisch aufgetrennten DNA-Fragmente über die Komplexbildung mit Silberionen ( $Ag^+$ ) und daran anschließender Fällung mittels Formaldehyd in Form von braunschwarzen Färbungen im Polyacrylamid-Gel sichtbar gemacht. Für die übrigen Genotypisierungen stand ein automatisches Sequenziergerät, Li-Cor IR 4200 (Li-Cor, Bad Homburg) zur Verfügung. Dieses Verfahren ermöglicht durch den Zusatz von Fluoreszenzfarbstoffen bei der Amplifikation der DNA-Fragmente die Erfassung der elektrophoretisch aufgetrennten Produkte per Laser in zeitlicher Reihenfolge. Durch die Möglichkeit der Verwendung von zwei verschiedenen Fluoreszenzfarbstoffen mit unterschiedlichen Wellenlängen (IRD 700 und IRD 800) konnten bei dieser Methode zwei Elektrophorese-Läufe zeitgleich ausgewertet werden.

### 2.6.1 PCR-Ansatz für den Einsatz von SSR-Markern

Der Polymorphie-Test der Eltern sowie die Genotypisierung der verschiedenen Populationen erfolgten je nach technischem System nach den unten aufgeführten PCR (*polymerase chain reaction*)-Ansätzen in Verwendung von SSR-Markern.

**PCR-Ansatz für die Methode der Silberfärbung**

DNA-Template	5,0 µl
H <sub>2</sub> O bidest.	12,1 µl
dNTP-Mix (2 mM)	2,0 µl
Primer forward (10 µM)	0,6 µl
Primer reverse (10 µM)	0,6 µl
MgCl (25 mM)	2,0 µl
10 x Thermophilic DNA Polymerase-Puffer * <sup>1</sup>	2,0 µl
Taq-Polymerase (5units/µl) * <sup>2</sup>	0,7 µl

\*<sup>1</sup> 10x Thermophilic DNA Polymerase-Puffer: 500 mM KCl, 100 mM Tris-HCl, 1 % Triton X-100, pH 9,0

\*<sup>2</sup> isolierte DNA-Polymerase aus dem hitzebeständigen Bakterienstamm *Thermus aquaticus*

**PCR-Ansatz für automatischen Sequenzierer**

DNA-Template	5,0 µl
H <sub>2</sub> O bidest.	9,4-11,4 µl * <sup>3</sup>
dNTP-Mix (2 mM)	0,750 µl
Primer forward (10 µM)	0,075 µl
Primer reverse (10 µM)	0,075 µl
M13uni-Primer (1pmol/µl)	0,5 µl
MgCl <sub>2</sub> (25 mM)	0,5-1,5 µl * <sup>3</sup>
10 x Thermophilic DNA Polymerase-Puffer	2,0 µl
Taq-Polymerase (5units/µl)	0,7 µl

\*<sup>3</sup> Menge abhängig von verwendetem Primer

Für die Durchführung der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurde bei beiden Methoden der PCR Thermocycler (Biometra sowie Perkin Elmer) mit folgenden Programmen verwendet:

**Programm 1:**

- 3 min, 94 °C
- 10 Zyklen: 1 min 94 °C, 1 min 64-55 °C, 1 min 72 °C
- 30 Zyklen: 1 min 94 °C, 1 min 55 °C, 1 min 72 °C
- 5 min 72 °C
- Dauerkühlung bei 4 °C

**Programm 2 für SSR-Marker Bmag0841-Analyse auf dem automatischen Sequenzierer:**

- 35 Zyklen: 1 min 94 °C, 1 min 55 °C, 2 min 72 °C
- 5 min 72 °C
- Dauerkühlung bei 4 °C



### 2.6.2 Polyacrylamid-Gel

Die amplifizierte Produkte der PCR wurden zur Auftrennung auf ein Polyacrylamid-Gel (PAA-Gel) aufgetragen. Die Herstellung der PAA-Gele für die Methode der Silberfärbung und für die Verwendung eines automatischen Sequenzierers Li-Cor IR 4200 verlief wie folgt:

a) Für die Silberfärbungsmethode wurde ein 6 %iges Polyacrylamid-Gel hergestellt aus:

<b>6 %iges Polyacrylamid-Gel</b>	
Harnstoff	25,2 g
5 x TBE-Puffer * <sup>4</sup>	6,0 ml
40 % AA/BIS (19:1)	9,0 ml
H <sub>2</sub> O <sub>bidest.</sub> (autoklaviert)	ad. 60 ml

\*<sup>4</sup> 5 x TBE-Puffer: Tris 54,0 g, Borsäure 27,5 g, EDTA 10 M 3,72 g, H<sub>2</sub>O <sub>bidest.</sub> ad 1.000 ml, pH 8,3

Diese Acrylamid-Lösung wurde zur Polymerisation mit 60 µl Temed und 600 µl 10 %iger APS (Ammoniumpersulfat) versetzt und zwischen zwei vorbehandelte und durch Abstandhalter (Spacer) getrennte Glasplatten gespritzt. Die Oberfläche der kurzen Glasplatte wurde zuvor mit einem Gemisch aus 950 µl Ethanol, 50 µl Essigsäure und 3 µl Silane zur Haftung des Gels behandelt, während die lange Glasplatte mit Blueslick beschichtet wurde, welches ein einfaches Lösen des Gels von dieser bewirkt.

b) Die Lösung für ein 6 %iges PAA-Gel für den automatischen Sequenzierer setzte sich für ein 25 cm langes Gel aus folgenden Substanzen zusammen:

<b>6 %iges PAA-Gel</b>	
Sequagel XR (Exented Range, Acrylamidlösung)	12 ml
Sequa Gel Complete (Buffer Reagent, Gelpuffer)	3 ml
10 %-iges APS (Ammoniumpersulfat)	120 µl

Das Gemisch wurde zwischen zwei mit Isopropanol gereinigte Glasplatten gefüllt, welche durch Spacer mit einer Dicke von 0,2 mm getrennt und mit einem speziellen Halterungsrahmen fixiert waren.

Die Polymerisation ist nach ein bis eineinhalb Stunden abgeschlossen.

### 2.6.3 Elektrophoretische Auftrennung der amplifizierten Produkte im PAA-Gel

Zur gelelektrophoretischen Auftrennung der amplifizierten PCR-Produkte wurden diese mit je 10 µl Stoppmix (s.u.) versetzt und für 3 min bei 95 °C denaturiert. Danach wurden 3-4 µl („Silbergel“) bzw. 1 µl (automatischer Sequenzierer „Li-Cor“) je Probe auf das ca. 45 °C warme Gel aufgetragen und bei ca. 80 Watt je nach Basenpaarlänge der DNA-Fragmente über einen Zeitraum von 1,5 bis 2 Stunden aufgetrennt. Als Standard diente ein 100 bp-Leiter. Als Laufpuffer wurde in beiden Elektrophorese-Methoden 0,5-0,6 x TBE-(Tris-Borat-EDTA) – Puffer eingesetzt.

#### **Stoppmix-Lösungen**

	„Silbergel“	„Li-Cor“
NaOH 10 M	50,0 µl	50,0 µl
Formamid	47,5 ml	47,5 ml
Xylencylanol	25,0 mg	--- ---
Fuchsin	--- ---	25,0 mg
H <sub>2</sub> O bidest.	ad 50 ml	ad 50 ml

#### **5xTBE-Puffer (pH 8,3)**

0,45 M	Tris	275,56 g
0,45 M	Borsäure	139,12 g
10 mM	EDTA	18,61 g
	H <sub>2</sub> O bidest.	ad 5 l

### 2.6.4 Identifikation der elektrophoretisch aufgetrennten Produkte

Die Darstellung der elektrophoretisch aufgetrennten PCR-Produkte in den PAA-Gelen basierte auf zwei verschiedenen Methoden. Die Produkte in dem Gel der Silberfärbemethode wurden durch eine chemische Reaktion sichtbar gemacht, bei welcher sich Silberionen an die sich im Gel befindlichen, aufgetrennten amplifizierten DNA-Fragmente setzten und zu einer graubraun-schwarzen Färbung dieser Fragmente führten. Hingegen wurden die im Gel des automatischen Sequenzierers aufgetrennten PCR-Produkte durch ihre Fluoreszenzmarkierung über einen Laser erfasst und mit Hilfe eines PC-Programmes auf einem Bildschirm in ihrem zeitlichen Ablauf als Banden dargestellt.

Für die Methode der Silberfärbung der PAA-Gele wurden folgende Lösungen verwendet:

<i>Fixierer</i>	160 ml Essigsäure + H <sub>2</sub> O <sub>bidest.</sub> ad 1.600 ml
<i>Färbelösung</i>	Silbernitrat 2 g + H <sub>2</sub> O <sub>bidest.</sub> ad 1.600 ml
<i>Entwickler</i>	NaCO <sub>3</sub> 48 g, Formaldehyd 2,8 ml, Na-Thiosulfat 320 µl, H <sub>2</sub> O <sub>bidest.</sub> ad 1.600 ml

Nach Beendigung der gelelektrophoretischen Auftrennung wurden die Glasplatten aus der Elektrophorese-Kammer genommen und die kurze Platte von der Langen getrennt. Die Kurze Platte, an welcher durch die Silanisierung das Gel haften blieb, wurde 20 min in Essigsäure-Lösung fixiert. Nach dreimaligem Waschen der Platte in je ca. 1.500 ml H<sub>2</sub>O<sub>bidest.</sub> für 2 min wurde diese für 30 min auf einem leicht schwenkenden Schüttler in die Färbelösung gelegt. Zur Entwicklung des Gels wurde dieses für 3 sec in 1.500 ml H<sub>2</sub>O<sub>bidest.</sub> gewaschen und anschließend in den Entwickler gelegt. Zum Stoppen des Entwicklungsvorgangs wurde das Gel nochmals für 2 min in der Essigsäurelösung fixiert und nach zweimaligem Waschvorgang in 1.500 ml H<sub>2</sub>O<sub>bidest.</sub> zum Trocknen aufgestellt.

### 2.6.5 Auswertung der entwickelten PAA-Gele

Bei der Auswertung des Polymorphie-Testes wurden SSR-Marker in die Gruppen polymorph, monomorph und unbrauchbar (keine klaren Bandenausprägung) eingeteilt. Die kodominanten polymorphen Marker konnten in der Genotypisierung der Populationen eingesetzt und deren Ergebnisse nach den vorkommenden Genotypen in Kulturelter-homozygot, heterozygot sowie Wildelter-homozygot eingeteilt werden. Zur Vereinfachung der rechnerischen Auswertung der Ergebnisse wurden den verschiedenen Bandenmustern, wie in Abb. 2.2 dargestellt, Zahlen von 0-3 zugeordnet, wobei die Zahl 0 den Ausfall einer Probe beschreibt.

————— —————	————— —————	————— —————	————— —————	————— —————
Kulturelter	Wildelter	homozygot Kulturelter	heterozygot	homozygot Wildelter
< 1 >	< 3 >	< 1 >	< 2 >	< 3 >
<b>Kreuzungseltern</b>		<b>Nachkommen</b>		

**Abb. 2.2:** Darstellung der möglichen Bandenmuster bei der kodominanten Auswertung von SSR-Markern bei den Kreuzungseltern sowie innerhalb der Population der Nachkommen

### **Polymorphie-Test der Eltern im PAA-Gel**

Der Polymorphie-Test der Eltern der ausgewählten Testpopulation, Arena x 41923, wurde mit den zur Verfügung stehenden SSR-Markern (s. Kap. 3.5) durchgeführt. Insgesamt sind 288 SSR-Marker getestet worden.

#### **2.6.6 Genotypisierung der Populationen**

Zunächst erfolgte eine Genotypisierung von 30 % der Pflanzen aus der Testpopulation, welche nach dem Verfahren der *Bulked segregant analysis* (Michelmore et al. 1991) ausgewählt wurden. Diese Genotypen teilen sich in zwei Extrema-Gruppen aus den 15 % resistenten bzw. tolerantesten sowie den 15 % anfälligsten Pflanzen der Resistenztestung auf. Anschließend wurden alle putativen Bereiche in der gesamten Population genauer untersucht.

Für die Auswahl nach der Methode des *Bulked segregant analysis* wurden zunächst die Schalen aussortiert, bei denen die durchschnittliche Befallsstärke zum Zeitpunkt des dritten Boniturtermins der zweiten und dritten Blätter der Sorte Arena nicht doppelt so hoch war wie die durchschnittliche Befallsstärke der zweiten und dritten Blätter der Wildform. Anschließend wurden für die Auswahl der beiden Extrema-Gruppen mit den Pflanzen der verbleibenden Schalen drei verschiedene Auswertungen mit Hilfe des Statistikprogrammes SAS durchgeführt und miteinander verglichen:

1. Sortierung nach der durchschnittlichen Befallsstärke der Pflanzen
2. Größensortierung der Befallsstärke nach einer Standardisierung der einzelnen Pflanzen um den Befallswert der Kontrollen (Eltern) innerhalb der jeweiligen Schalen (Bildung der Differenz zwischen dem Boniturwert jeder Pflanze und dem des Kulturelterns Arena der jeweiligen Schale)
3. Größensortierung der Befallsstärke, nachdem die Befallswerte jeder Pflanze durch den Befallswert der Kontrollen (Eltern) innerhalb der jeweiligen Schalen dividiert wurden

Im Anschluss an die statistische Auswertung dieser Daten wurden die restlichen 70 % der Testpopulation sowie die drei Verifikationspopulationen mit ausgewählten SSR-Markern genotypisiert, welche an Hand der ersten QRL-Analyse der beiden Extrema-Gruppen eine mögliche Beziehung zu der Resistenz aufweisen.

## 2.7 QRL-Analyse

Die 30 % (zwei Extrema-Gruppen mit je 15 %) der Testpopulation (Arena x 41923) aus der *Bulked segregant analysis* wurde mit dem Verfahren der *single point analysis* (einfaktorielle Varianzanalyse) ausgewertet. Bei dieser Analyse findet eine Betrachtung jedes einzelnen Marker-Locus unabhängig von den anderen untersuchten Marker-Loci statt.

Anschließend erfolgte mit den sich daraus ergebenden hoch signifikanten SSR-Marker (\*\*\*) eine weitere *single point* sowie eine *combined analysis* (mehrfaktorielle Varianzanalyse) der gesamten Testpopulation und der Verifikationspopulationen. Die dabei angewendete *combined analysis* betrachtet die Effekte der einzelnen Marker-Loci in Abhängigkeit deren Wechselwirkungen zu den Effekten der übrigen untersuchten Marker-Loci des Genoms.

Die zusätzliche Verrechnung mittels der in dieser Arbeit als *Random-Analyse* bezeichneten Auswertung stellt eine Alternativ-Methode, in der die Varianz zwischen den BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen mit berücksichtigt wird. Die BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen sind hierarchisch den Markern zugeteilt. Bei diesen Pflanzen handelt es sich um eine zufällige Auswahl aus der Gesamtpopulation, wodurch dieser Faktor als random anzusehen ist. Demzufolge ergibt sich ein anderer Fehlerterm als bei den vorher genannten Auswertungen. Die *Random-Analyse* wurde nur in der Testpopulation eingesetzt.

Zudem wurden die Populationen auf Epistasie hin untersucht, welche Interaktionen zwischen zwei oder mehreren Marker-Loci beschreibt.

Die Varianzanalysen wurden mit der Prozedur GLM (*Generalized Linear Model*) des Statistik-Programm SAS (Firma: SAS Institute Inc., USA) durchgeführt. Die statistischen Modelle können wie folgt beschrieben werden:

*single point analysis*

$$y_a = \mu + m_i + ba_j + t_k + \varepsilon_{ijk}$$

*combined analysis*

$$y_b = \mu + m_i + m_{...} + m_n + ba_j + t_k + \varepsilon_{ijk}$$

*Random analysis*

$$y_c = \mu + m_i + p_h(m_i) + ba_j + t_k + ba_j t_k + \varepsilon_{ijk}$$

## Epistasie

$$y_d = \mu + m_i + m_b + mm_{ib} + ba_j + t_k + \varepsilon_{ibjk}$$

$y_a$  : Effekt jedes einzelnen Marker-Locus an der Resistenzeigenschaft gegen *P. teres*

$y_b$  : Effekt jedes einzelnen Marker-Locus an der Resistenzeigenschaft gegen *P. teres* in Abhängigkeit zu allen anderen untersuchten Marker-Loci

$y_c$  : Effekt jedes einzelnen Marker-Locus an der Resistenzeigenschaft gegen *P. teres* in Abhängigkeit von zufälligen Effekten

$y_d$  : Effekt zweier einzelner Marker-Loci und Effekt deren Interaktion an der Resistenzeigenschaft gegen *P. teres*

$\mu$  : Mittelwert

$m_i$  : Effekt der Marker-Genotypklassen  $i$

$p_h(m_i)$ : Effekt der Marker-Genotypklassen  $i$  in Abhängigkeit der  $BC_2F_2$ -Pflanzen  $h$

$mm_{ib}$  : Effekt der Interaktion zweier Marker-Genotypklassen  $i$  und  $b$

$ba_j$  : Effekt der Blattalterklassen  $j$

$t_k$  : Effekt der Boniturzeitpunkte  $k$

$ba_j t_k$ : Effekt der Interaktion von Blattalter  $j$  mit Boniturzeitpunkt  $k$

$\varepsilon_{ijk}$  : Restfehler über  $i$  Marker-Genotypklassen,  $j$  Blattalterklassen und  $k$  Boniturzeitpunkte

Signifikante Ergebnisse dieser Verrechnungen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) wurden bei gleichzeitiger Veränderung der Allelfrequenz zwischen der beiden Extrema-Gruppen als putative QTL (*Quantitative trait loci*) bzw. QRL (*Quantitative resistance loci*) bezeichnet.

In dieser Arbeit werden den Signifikanzschwellen folgende Irrtumswahrscheinlichkeiten zugeordnet:

$$\alpha \leq 0,001 = ***$$

$$\alpha \leq 0,01 = **$$

$$\alpha \leq 0,05 = *$$

Der Vergleich von Mittelwerten erfolgte über die Methode der Kontrast-Analyse. Die allgemein eingesetzte Transformation über Arcussinus ( $\arcsin\sqrt{p}$ )diente zur Herstellung der Normalverteilung.

### 3. Ergebnisse

Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen sowie F<sub>2</sub>-Pflanzen mit Hilfe von *in vitro* Resistenz-Testungen in Kombination mit SSR-Marker-Analysen hinsichtlich putativer QTLs bzw. QRLs untersucht. Die Ergebnisse werden in diesem Kapitel vorgestellt.

#### 3.1 Kultivierung und Auswahl eines *Drechslera teres*-Isolates

Bei der Verwendung der verschiedenen Nährmedien (s. Kap. 2.2.1, Seite 15) konnte festgestellt werden, dass die Konidienbildung von der Art der Nährmedien sowie von der regelmäßigen Überimpfung der Isolate auf neue Nährmedien abhängig ist.

Die Konidienbildung des verwendeten Pathogens war fast ausschließlich auf den Nährmedien SNA, 20 %iger Kartoffel-Karotten-Agar sowie 10 %iger V8-Gemüsesaft-Agar zu beobachten. In den Kleinversuchen zur Kultivierung der einzelnen Isolate konnte kein signifikanter positiver oder negativer Einfluss der Lichtdauer, -intensität oder der Lichtart (normales Weißlicht, Osram Fluora, NUV-Licht) auf die Konidienbildung der einzelnen Isolate festgestellt werden.

Für eine Dauerkultur der Isolate eignete sich sehr gut das Übersetzen von myceldurchwachsenen Tomatenmark-Agar-Stückchen auf autoklaviertes angefeuchtetes Filterpapier. Der auf dem Filterpapier gebildete Pilz konnte auch nach zweijähriger Lagerung bei Raumtemperatur in mit Parafilm verschlossenen Petrischalen auf Nährmedien wieder zum Wachstum angeregt werden.

In Tab. 3.1 sind die histologischen Eigenschaften der Isolate aufgeführt. Mit Hilfe eines Binokulars erfolgte eine visuelle Einstufung der Häufigkeit dieser Eigenschaften. Das grau unterlegte Isolat 67/1 wurde für die *in vitro* Resistenztestung der vorliegenden Arbeit ausgewählt, da dieses von allen drei Isolaten die höchste Aggressivität gegenüber dem Wirt, den Gerstenpflanzen, zeigte.

**Tab. 3.1:** durchschnittliche histologische Eigenschaften der *P. teres*-Isolate auf den verschiedenen Nährmedien (s. Kap. 2.2.1) sowie Aggressivitätsverhalten gegenüber der Wirtspflanze

Isolat	Herkunft	Mycelwachstum	Konidienbildung	Aggressivität gegenüber der Wirtspflanze
ReAm	Dr. Kopahnke, Aschersleben	sehr stark	stark - mäßig	hoch
67/1	Dr. Sachs, BBA	sehr stark - stark	sehr stark - mäßig	sehr hoch bis hoch
65/2	Dr. Sachs, BBA	stark - schwach	schwach	mittel

### 3.2 Auswahl des Kulturelterers für die Testpopulation

Bei den Versuchen zur Auswahl eines geeigneten Kulturelterers in Vergleich mit dem Wildelter 41923 in ihrer Anfälligkeit gegenüber den drei verschiedenen *P. teres*-Isolaten zeigten die drei Kultursorten der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Kreuzungen Arena, Berolina und Golf unterschiedliche Verhaltensweisen. Im Vergleich von Berolina mit der Wildform und dem Isolat 67/1 konnten die deutlichsten Unterschiede in der Anfälligkeit gegenüber dem Isolat zwischen Wildform und Kultursorte beobachtet werden. Bei dieser Gerstensorte waren die Infektionssymptome am stärksten ausgeprägt. Die Blätter neigten jedoch bei den Resistenztests sehr häufig zur schnellen Vergilbung, wodurch die Bonitur erschwert sowie teilweise unmöglich machte. Hingegen wies in diesen Versuchen die Kultursorte Golf die geringsten Befallsunterschiede zur Wildform auf. Aus diesen Gründen wurde für die Testpopulation die Wildform 41923 in Kreuzung mit der Kultursorte Arena gewählt. Diese wiesen eine geeignete Kombination zwischen Anfälligkeit und Grünerhaltung der Blätter auf.

Die Testpopulation für die vorliegende Arbeit setzte sich somit aufgrund dieser Ergebnisse aus folgenden Komponenten zusammen:

Wild-Elter: **41923** (*Hordeum vulgare* L. var. *spontaneum*, Israel, BAZ Genbank, Braunschweig)

Kultur-Elter: **Arena** (*Hordeum vulgare* L. var. *vulgare* convar. *distichon*, Deutschland, H. Schweiger und Sohn, Feldkirchen/Moosburg)

Isolat: **67/1** (*Pyrenophora teres*, Dr. Sachs, BBA Braunschweig)

### 3.3 Resistenz-Testung: Bonitur BEFALL

In den *in vitro* Testungen hinsichtlich der Resistenz gegenüber *P. teres* wurden die Testpopulation mit 636 Pflanzen sowie 3 Verifikationspopulationen mit je ca. 170 Pflanzen visuell auf den prozentualen Befall pro Blattfläche (Befallsstärke) und auf die Ausprägungsart des Symptoms, den TYP, bonitiert. Die Unterschiede hinsichtlich der Anzahl (n) der getesteten Pflanzen pro Blattalter ergaben sich durch Ausfälle von inokulierten Blättern infolge von Vergilbung und Absterbeerscheinungen.

#### 3.3.1 Testpopulation Arena x 41923

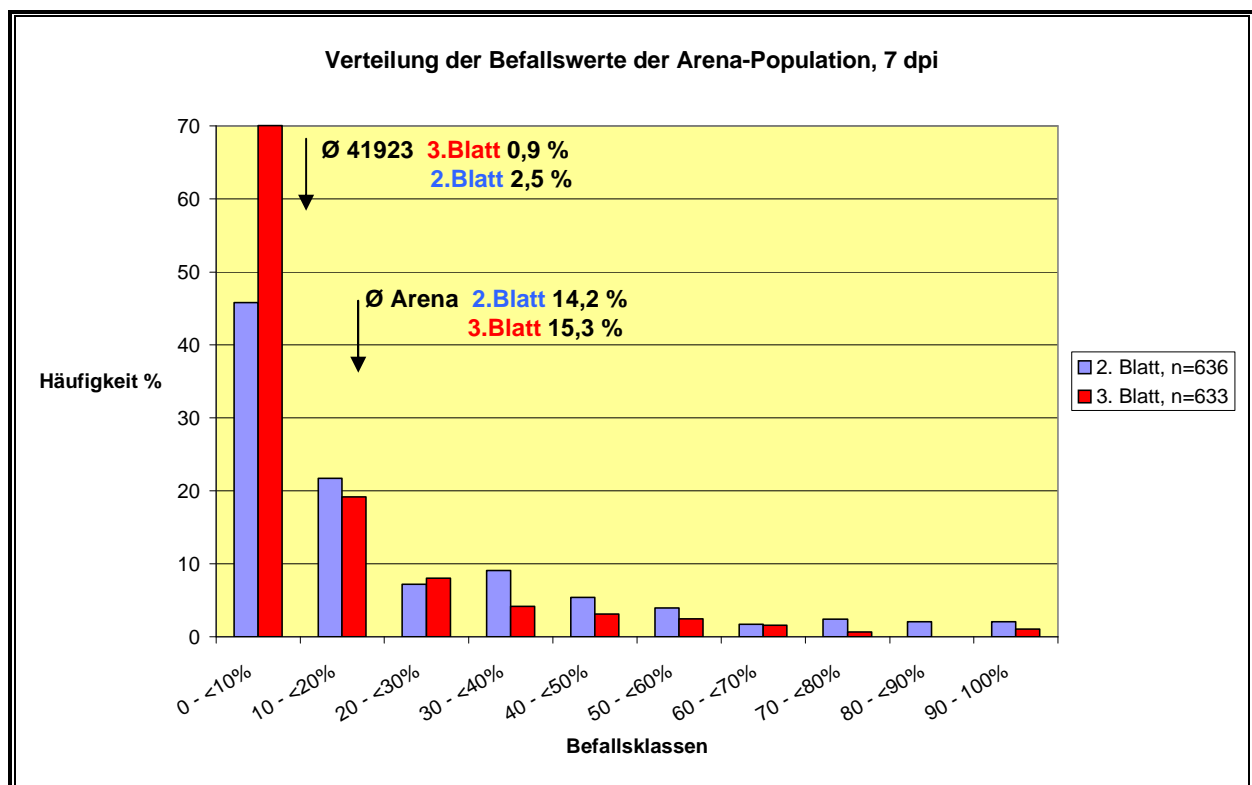
In den folgenden Abbildungen sind von jeder BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanze der Testpopulation Arena x 41923 die Häufigkeitsverteilungen der Befallsstärken der zweiten und dritten



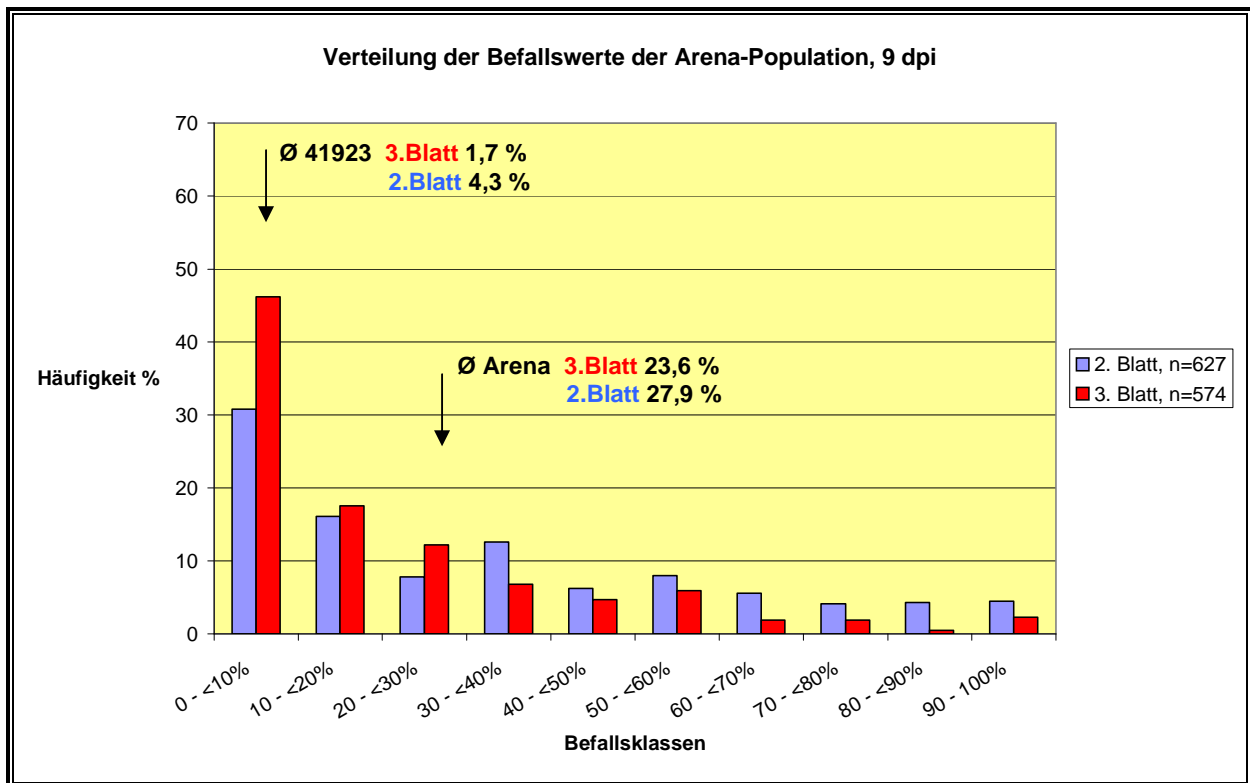
Laubblätter jeweils sieben (Abb. 3.1) und neun Tage (Abb. 3.2) nach der Inokulation (dpi = *days post inoculation*) dargestellt. Mit Pfeilen sind die durchschnittlichen Befallsstärken der Eltern 41923 und Arena markiert.

Die durchschnittliche Befallsstärke der Kultursorte Arena lag sieben Tage nach Inokulation bei 14,2 % (2. Blatt) bzw. bei 15,3 % (3. Blatt). Diese stieg neun Tage nach Inokulation bei 27,9 % (2. Blatt) bzw. 23,6 % (3. Blatt) an. Von den BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen der Testpopulation wiesen sieben Tage nach Inokulation 42,5 % der 2ten Blätter und 19,7 % der 3ten Blätter höhere Befallswerte als der jeweilige Mittelwert des Kulturelterns Arena auf. Neun Tage nach Inokulation waren 45,5 % der 2ten Blätter und 30,1 % der 3ten Blätter der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen stärker befallen als der Kulturelter Arena.

Die durchschnittliche Befallsstärke des Wildelterns lag sieben Tage nach Inokulation bei 2,5 % (2. Blatt) bzw. bei 0,9 % (3. Blatt). Diese stieg neun Tage nach Inokulation auf 4,3 % (2. Blatt) bzw. auf 1,7 % (3. Blatt) an. Von den BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen der Testpopulation stellte sich sieben Tage nach Inokulation bei 20,6 % der 2ten Blätter und 21,6 % der 3ten Blätter ein geringerer Befall als der jeweilige Durchschnitt des Wildelterns dar. Neun Tage nach Inokulation ist kaum eine Veränderung zu beobachten. Bei 20,9 % der 2ten Blätter und 23,9 % der 3ten Blätter der Pflanzen stellt sich die Befallsstärke geringer dar als die des jeweiligen Durchschnitts des Wildelterns.



**Abb. 3.1:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der gesamten auf Resistenz getesteten Pflanzen der Test-population Arena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



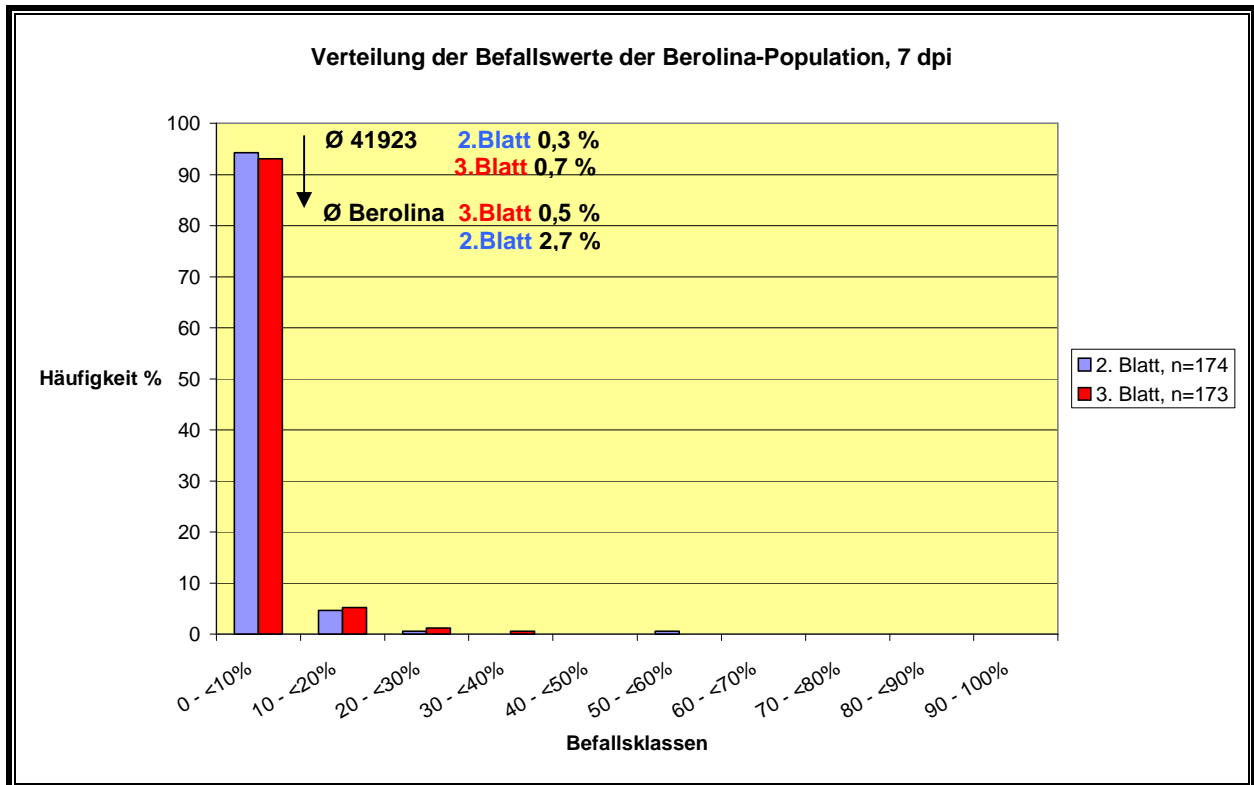
**Abb. 3.2:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der gesamten auf Resistenz getesteten Pflanzen der Test-population Arena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

### 3.3.2 Verifikationspopulationen (Berolina, Golf und Pasadena x 41923)

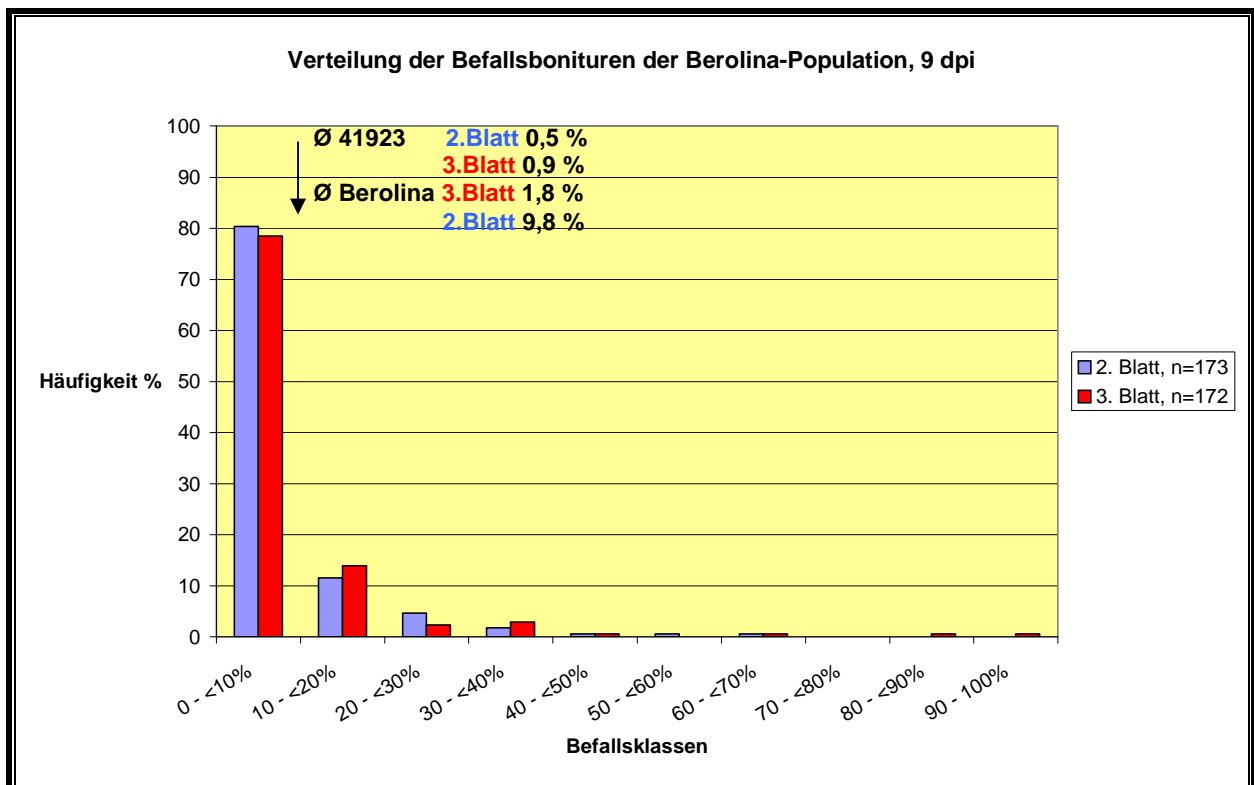
Zur Verifikation der Ergebnisse der Arena-Population (Testpopulation) wurden drei weitere Populationen herangezogen. Davon waren die Kreuzungen der Gerstensorten Berolina und Golf mit dem Wildelter 41923 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Population und die Kreuzung des gleichen Wildelters mit Pasadena eine F<sub>2</sub>-Population.

#### Verifikationspopulation Berolina x 41923

Von der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Kreuzung Berolina x 41923 erreichten 174 von 200 ausgesäten Körnern für die Resistenztestung das notwendige Stadium. Die Verteilung des prozentualen Befalls der Population ist in Abb. 3.3 für sieben Tage und in Abb. 3.4 für neun Tage nach Inokulation abzulesen. Es ist allgemein ein sehr geringer Befall erkennbar. Ca. 75 % aller Testpflanzen dieser BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Kreuzung wiesen neun Tage nach Inokulation einen Befall unter 5 % auf. Zudem waren 42,5 % der 2ten Blätter und 61,8 % der 3ten Blätter sieben Tage nach Inokulation sowie 40,8 % der 2ten Blätter und 49,7 % der 3ten Blätter neun Tage nach Inokulation geringer befallen als der jeweilige Wildelterdurchschnitt. Der Mittelwert der Befallsstärke der Pflanzen der Berolina-Kreuzung liegt neun Tage nach Inokulation mit 5,3 % deutlich unter dem Mittelwert von 24,3 % der Pflanzen der Arena-Kreuzung.



**Abb. 3.3:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikationspopulation Berolina x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

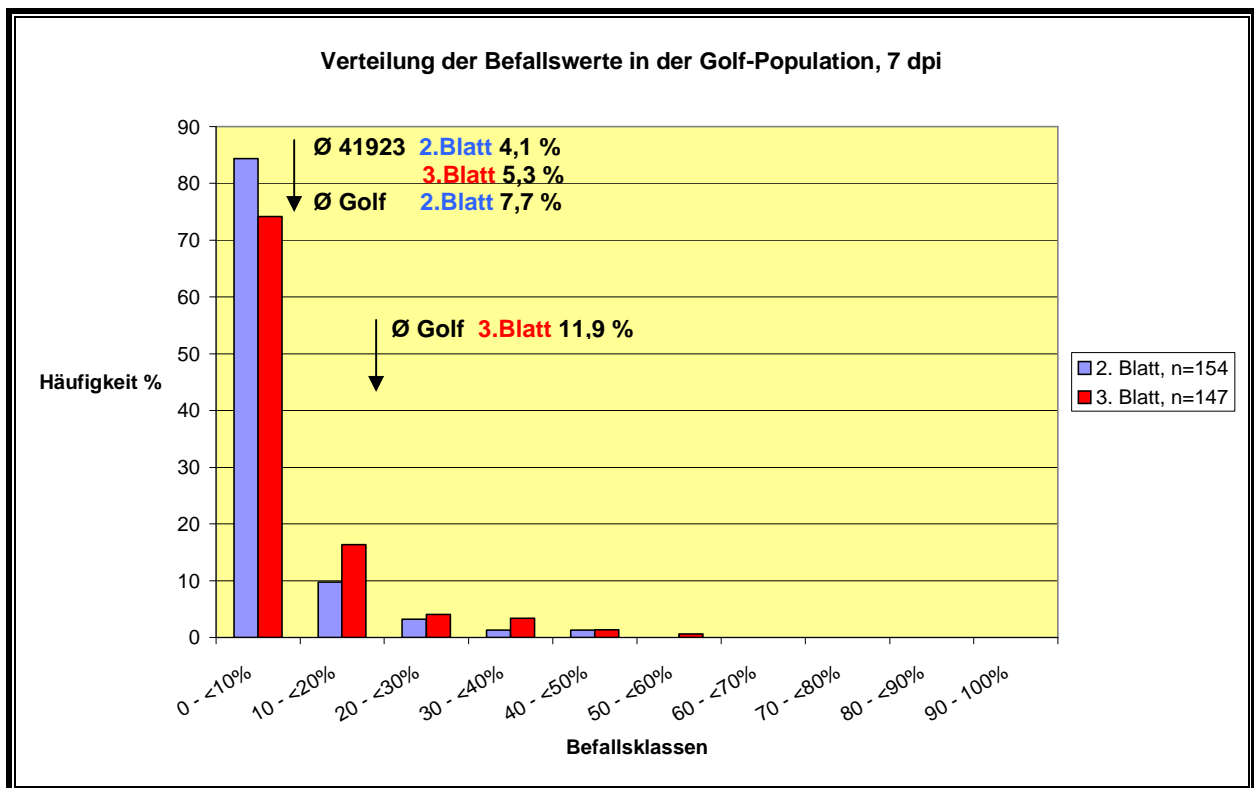


**Abb. 3.4:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikationspopulation Berolina x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

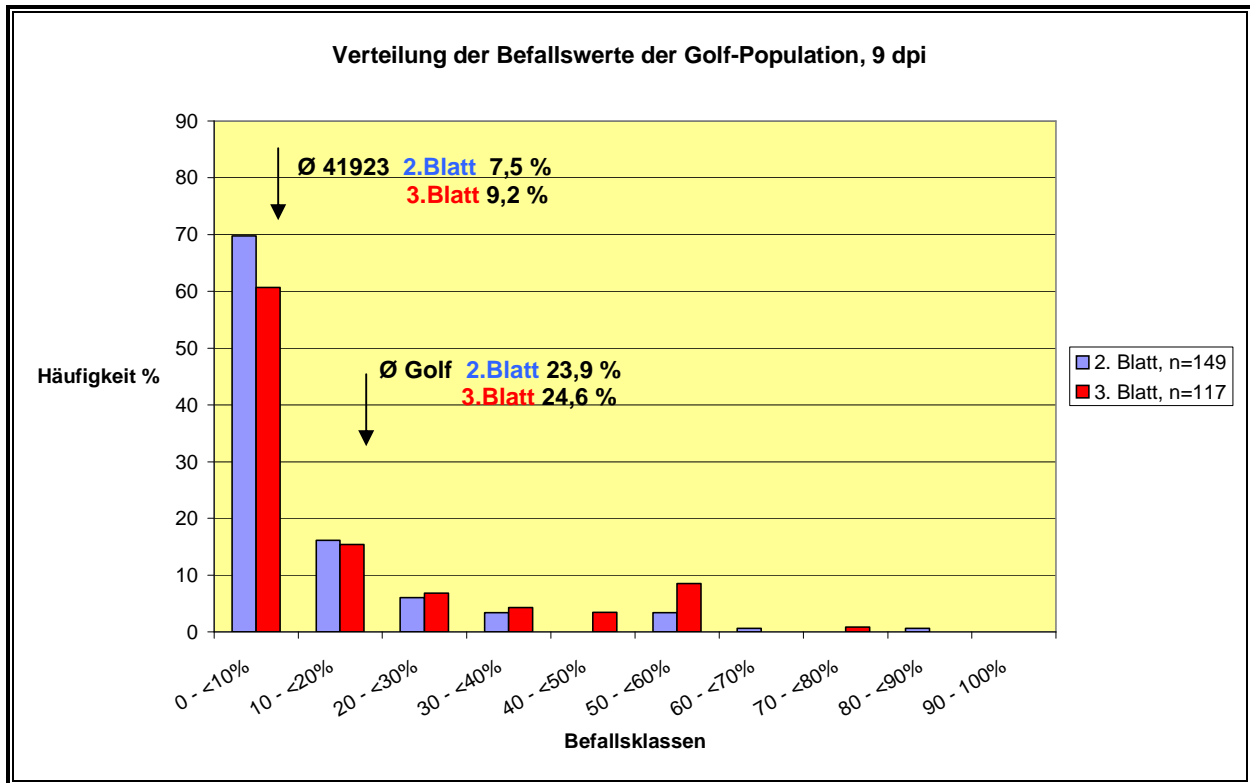
**Verifikationspopulation Golf x 41923**

In der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Kreuzung Golf x 41923 sind 154 Pflanzen auf Resistenz getestet worden. In Abb. 3.5 sowie Abb. 3.6 sind die Häufigkeitsverteilungen in Befallsklassen der getesteten Pflanzen sieben bzw. neun Tage nach Inokulation dargestellt. Bei dieser Kreuzung liegt neun Tage nach Inokulation bei ca. 60 % der Population ein Befall unter 5 % vor. Im Verhältnis zu dem Mittelwert des Wildelters waren 71,4 % der 2ten Blätter und 70,1 % der 3ten Blätter zum Zeitpunkt sieben Tage nach Inokulation sowie 62,4 % der 2ten Blätter und 60,7 % der 3ten Blätter neun Tage nach Inokulation geringer befallen. Über dem jeweiligen Mittelwert der Befallsstärke des Kulturelterers Golf liegen sieben Tage nach Inokulation 5,8 % der 2ten Blätter und 13,6 % der 3ten Blätter. Neun Tage nach Inokulation waren 8,1 % der 2ten Blätter und 18,8 % der 3ten Blätter der Pflanzen stärker befallen als der entsprechende Kulturelterdurchschnitt.

Der Mittelwert aller Pflanzen der Golf-Population lag neun Tage nach Inokulation bei 10 %. Damit ist dieser Mittelwert fast doppelt so hoch wie der Mittelwert der Berolina-Population, jedoch um etwa die Hälfte niedriger als der Mittelwert der Arena-Population.



**Abb. 3.5:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Golf x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



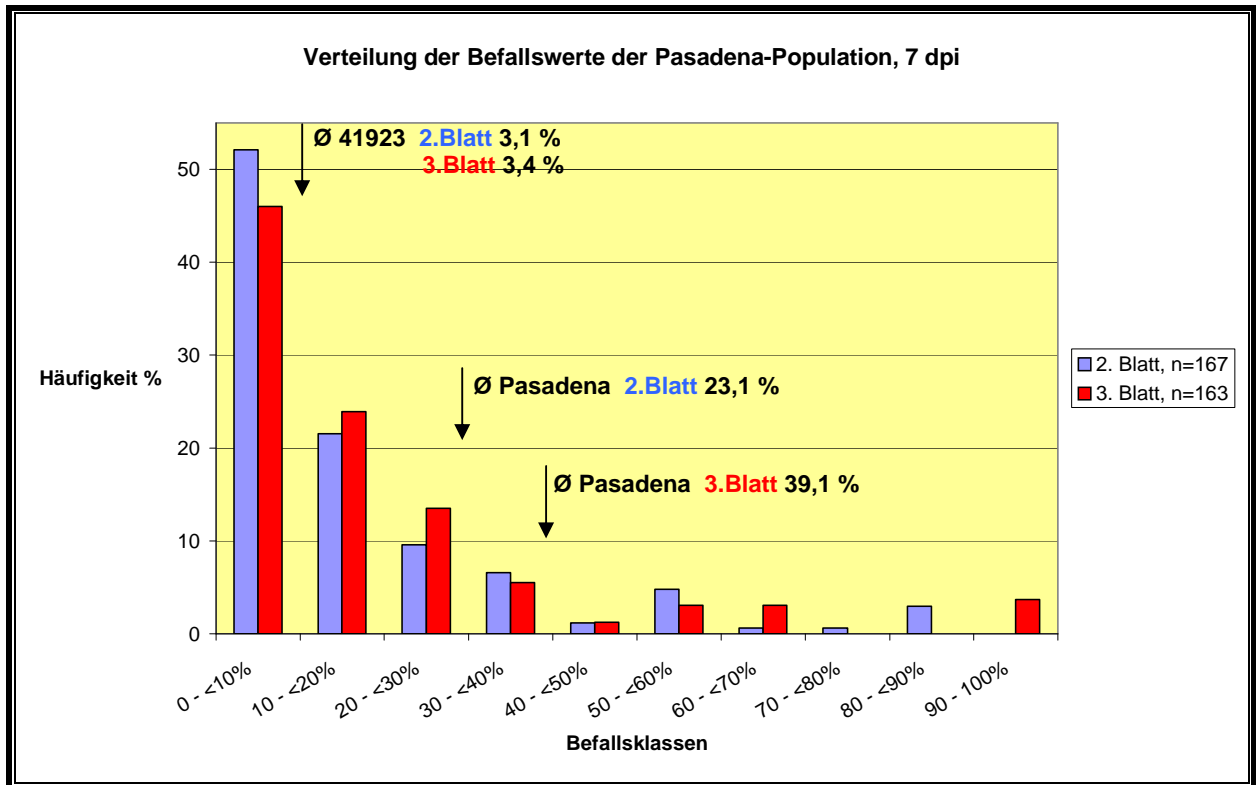
**Abb. 3.6:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Golf x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

### **Verifikationspopulation Pasadena x 41923**

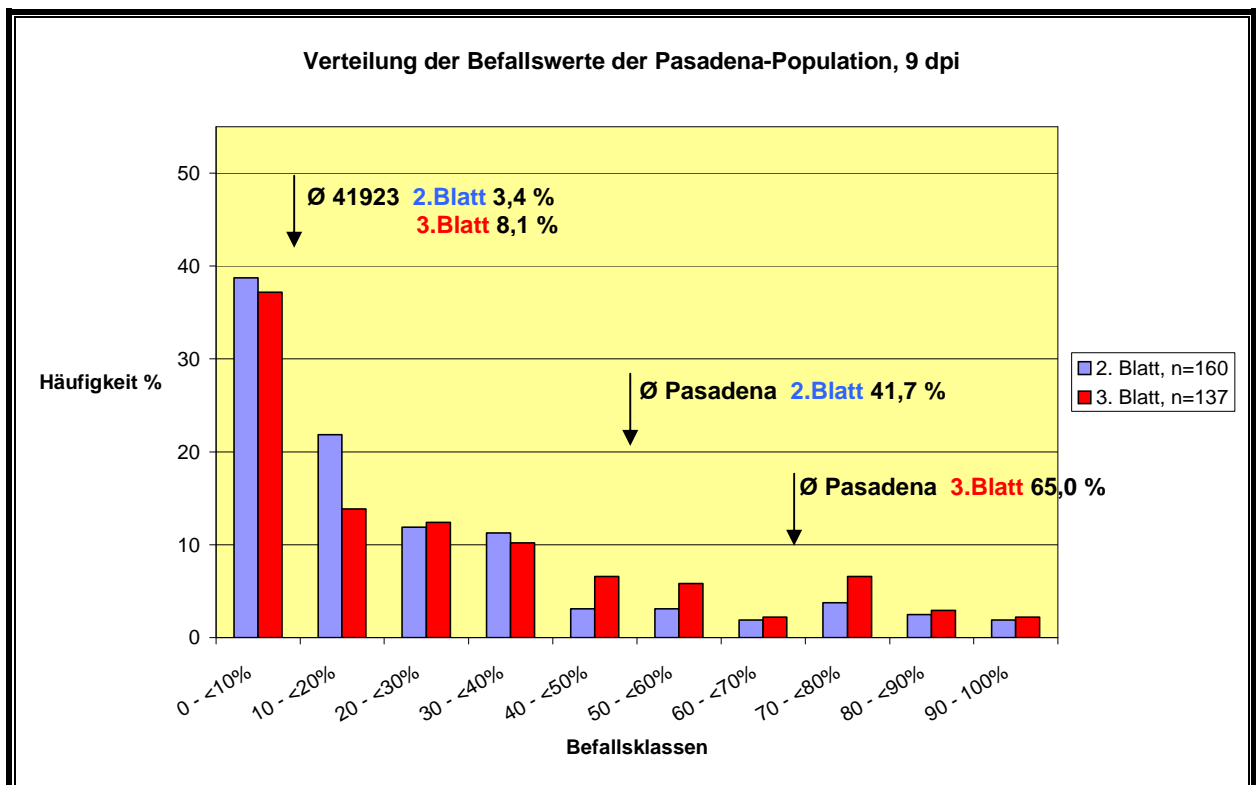
Von der F<sub>2</sub>-Kreuzung Pasadena x 41923 wurden 167 Pflanzen in die Resistenztestung mit einbezogen. Bei der Boniturwerteverteilung innerhalb dieser Kreuzung lagen ca. 40 % aller Boniturwerte der Testpflanzen neun Tage nach Inokulation unter 10 %-Befall pro Blattfläche (Abb. 3.8). Die durchschnittliche Befallsstärke der Wildform lag sieben Tage nach Inokulation bei 3,1 % (2. Blatt) bzw. 3,4 % (3. Blatt). Diese stieg neun Tage nach Inokulation auf 3,4 % (2. Blatt) bzw. 8,1 % (3. Blatt) an. Bei der Betrachtung der Population im Bezug zu den Mittelwerten der Eltern (Abb. 3.7 und Abb. 3.8) zeigten 33,5 % der 2ten Blätter und 34,4 % der 3ten Blätter der Pflanzen sieben Tage nach Inokulation eine geringere Befallsstärke als der Wildelter. Neun Tage nach Inokulation waren 21,9 % der 2ten Blätter und 37,2 % der 3ten Blätter der Pflanzen geringer als der Wildelter befallen.

Die durchschnittliche Befallsstärke der Kultursorte Pasadena lag sieben Tage nach Inokulation bei 23,1 % (2. Blatt) bzw. 39,1 % (3. Blatt). Diese stieg neun Tage nach Inokulation auf 41,7 % (2. Blatt) bzw. 65,0 % (3. Blatt) an. Von den F<sub>2</sub>-Pflanzen zeigten 19,2 % der 2ten Blätter und 11,0 % der 3ten Blätter sieben Tage nach Inokulation einen stärkeren Befall als der Kulturelter Pasadena. Neun Tage nach Inokulation waren 13,8 % der 2ten Blätter und 11,7 % der 3ten Blätter stärker als der Kulturelter befallen.

Der Mittelwert der Befallsstärke dieser Population lag bei 22,3 % und entspricht etwa dem Mittelwert von 24,3 % der Arena-Population.



**Abb. 3.7:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Pasadena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



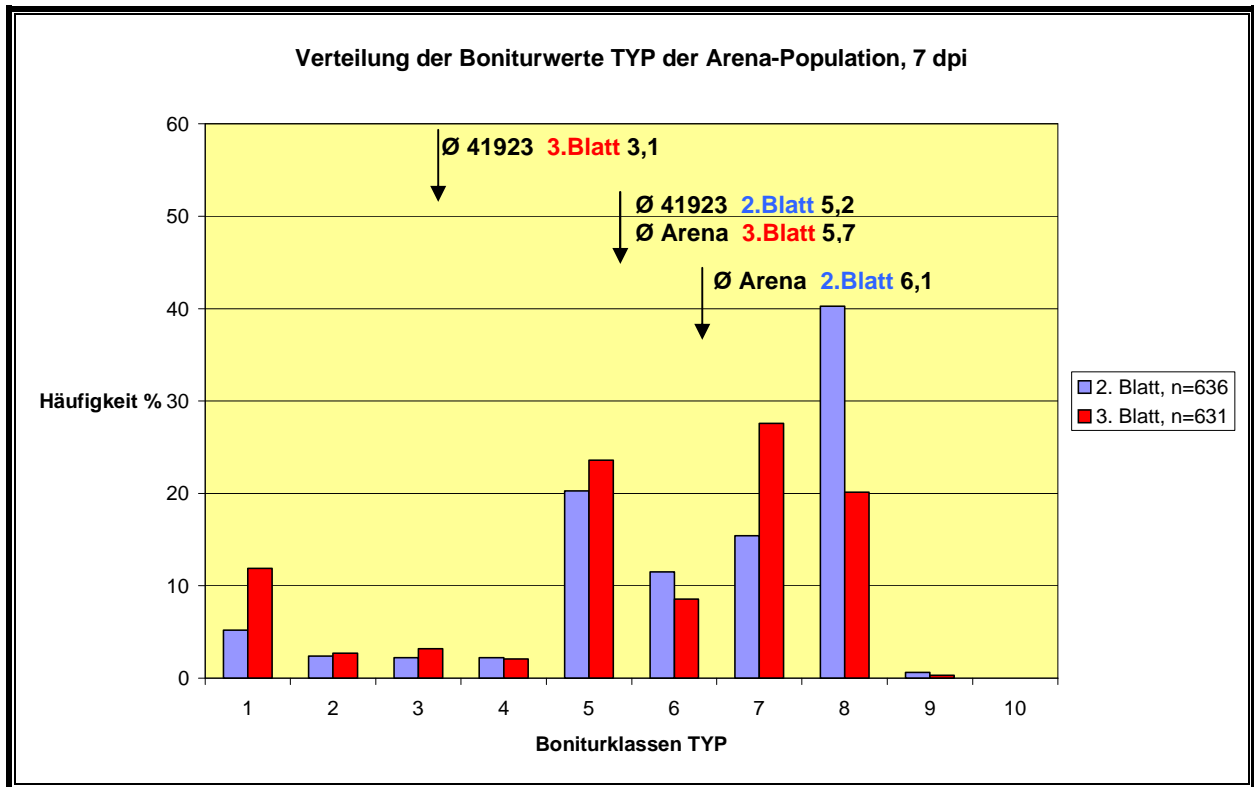
**Abb. 3.8:** Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Pasadena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

### 3.4 Resistenz-Testung: Bonitur TYP

Neben der Bonitur der Befallsstärke der Testpopulation sowie der drei Verifikationspopulationen erfolgte zusätzlich die Bonitur hinsichtlich der Ausprägungsart des Symptoms, dem TYP, welche sich in neun Klassen aufteilt (s. 2.3.3, S.20). Insgesamt betrachtet liegt die Mehrzahl der Boniturwerte des TYPs, mit Ausnahme der Berolina-Population, in den Klassen 5-8.

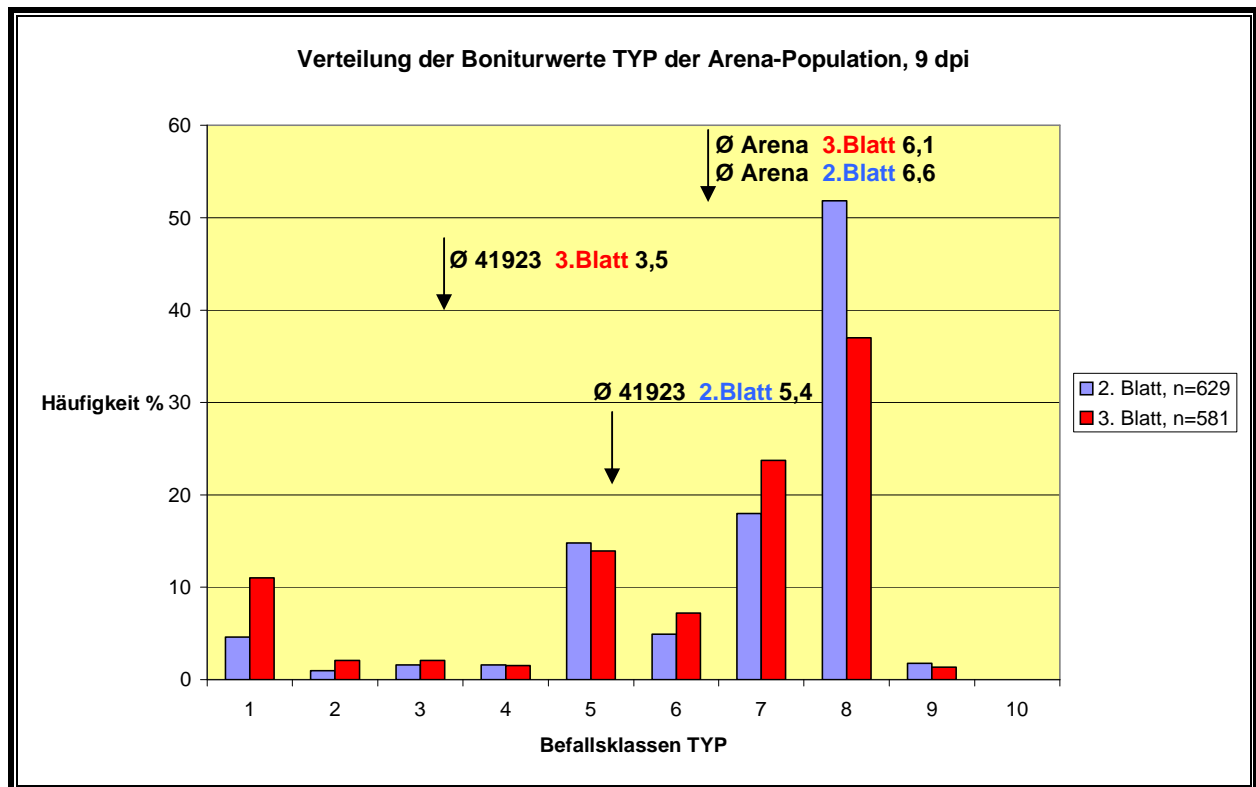
#### 3.4.1 Testpopulation Arena x 41923

In den Abb. 3.9 und Abb. 3.10 wird die Häufigkeitsverteilung des TYPs in der Arena-Population graphisch dargestellt. 11,9 % der 2ten Blätter und 14,7 % der 3ten Blätter sieben Tage nach Inokulation sowie 8,7 % der 2ten Blätter und 15,1 % der 3ten Blätter neun Tage nach Inokulation der Population weisen eine schwächere Symptomausprägung als der jeweilige Mittelwert des Wildelterns auf. Im Verhältnis zu dem jeweiligen Mittelwert des Kulturelterns Arena zeigen 56,3 % der 2ten Blätter und 56,5 % der 3ten Blätter der Population sieben Tage nach Inokulation sowie 71,5 % der 2ten Blätter und 62,1 % der 3ten Blätter neun Tage nach Inokulation eine stärkere Ausprägungsstufe der Infektion mit *P. teres*.



**Abb. 3.9:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Testpopulation Arena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern





**Abb. 3.10:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Testpopulation Arena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

### 3.4.2 Verifikationspopulationen (Berolina, Golf und Pasadena x 41923)

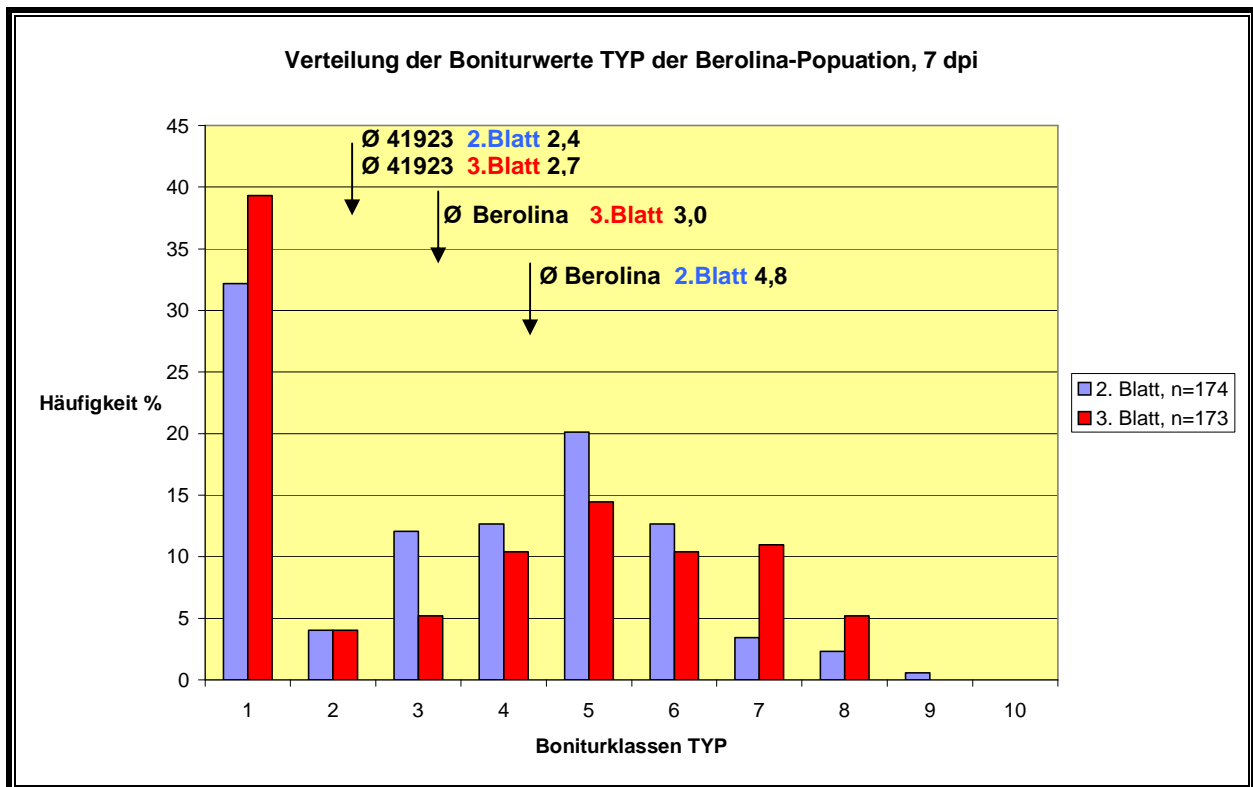
Die Untersuchung der Population der Kreuzung **Berolina x 41923** zeigt, dass ca. 35 % der getesteten Pflanzen die Ausprägungsstufe 1 des Boniturmerkmals TYP aufwiesen (s. Abb. 3.11 und Abb. 3.12). Die Häufigkeitsverteilung dieser Bonituren wies bei 36,2 % der 2ten Blätter und 43,4 % der 3ten Blätter der Pflanzen der Population sieben Tage nach Inokulation eine schwächere Ausprägungsstufe auf als der jeweilige Mittelwert des Wildelters. Neun Tage nach Inokulation zeigten 32,2 % der 2ten Blätter und 43,4 % der 3ten Blätter eine schwächere Ausprägungsstufe als der jeweilige Mittelwert des Wildelters.

Mit stärkeren Symptomausprägungen als der jeweilige Mittelwert des Kulturelter zeigten sich sieben Tage nach Inokulation 39,1 % der 2ten Blätter und 52,4 % der 3ten Blätter. Neun Tage nach Inokulation wiesen 5,2 % der 2ten Blätter und 54,3 % der 3ten Blätter stärkere Symptomausprägungen als der jeweilige Mittelwert des Kulturelter auf.

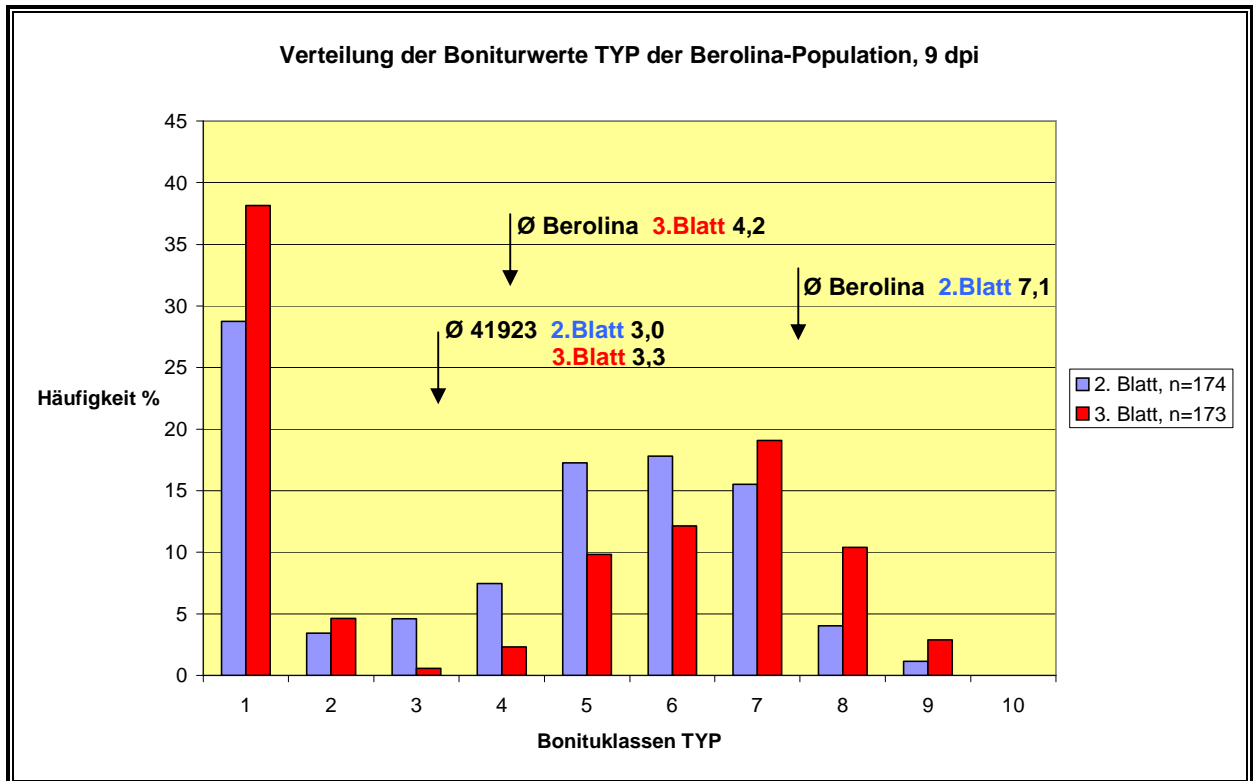
Bei der Häufigkeitsverteilung der Boniturwerte TYP der Verifikationspopulation **Golf x 41923** (s. Abb. 3.13 und Abb. 3.14) wurden 71,9 % der 2ten Blätter und 57,4 % der 3ten Blätter der Pflanzen 7 Tage nach Inokulation sowie 32,9 % der 2ten Blätter und 51,3 % der 3ten Blätter mit niedrigeren Symptomtypen bonitiert. Deutlichere Symptomausprägungen als der jeweilige Mittelwert des Kulturelter Golf zeigten 19,0 % der 2ten Blätter und 42,6 % der 3ten

Blätter der Pflanzen 7 Tage nach Inokulation sowie 26,8 % der 2ten Blätter und 33,3 % der 3ten Blätter 9 Tage nach Inokulation.

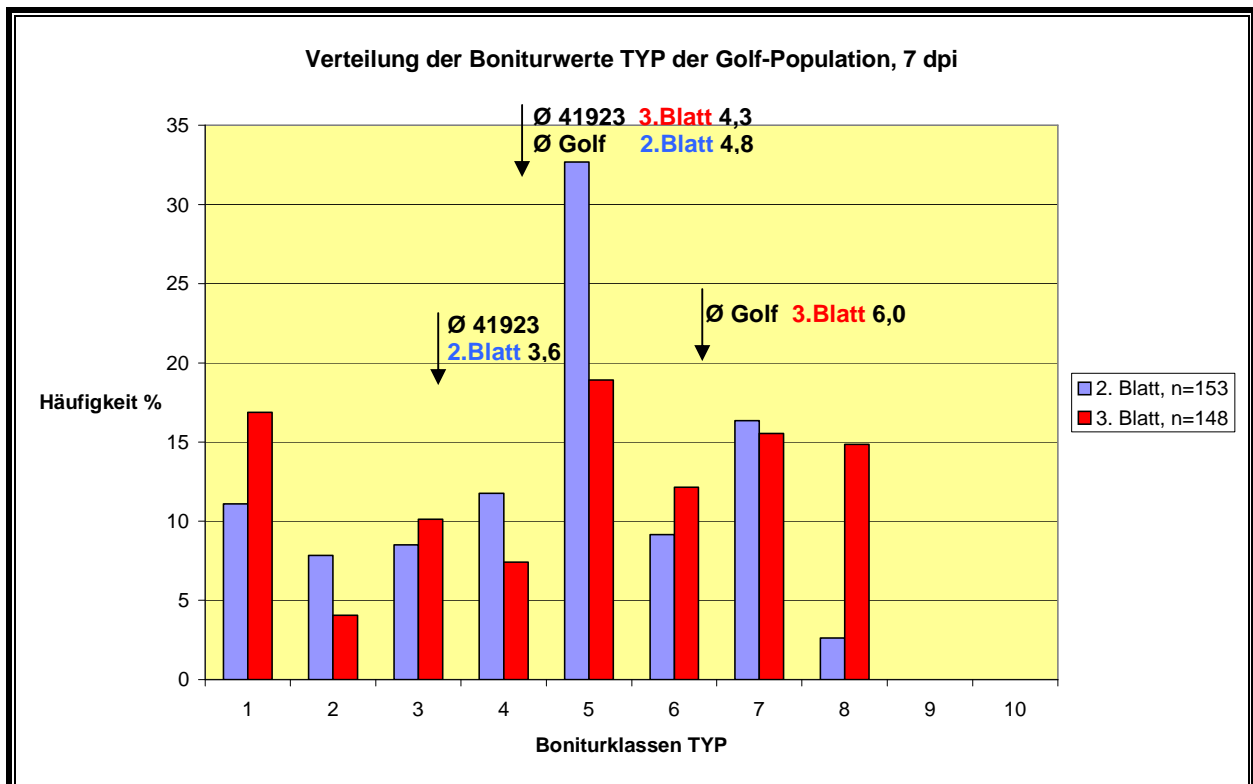
Die Häufigkeitsverteilungen des Merkmals TYP der F<sub>2</sub>-Population **Pasadena x 41923** sind in Abb. 3.15 und Abb. 3.16 dargestellt. In dieser Population konnten 12,0 % der 2ten Blätter und 13,5 % der 3ten Blätter der Pflanzen 7 Tage nach Inokulation sowie 8,1 % der 2ten Blätter und 24,1 % der 3ten Blätter 9 Tage nach Inokulation mit schwächeren Symptomausprägungen als der jeweilige Mittelwert des Wildelters verzeichnet werden. In höhere TYP-Klassen als der jeweilige Mittelwert von Pasadena wurden 16,2 % der 2ten Blätter und 21,5 % der 3ten Blätter der Population 7 Tage nach Inokulation sowie 20,6 % der 2ten Blätter und 8,3 % der 3ten Blätter 9 Tage nach Inokulation eingestuft.



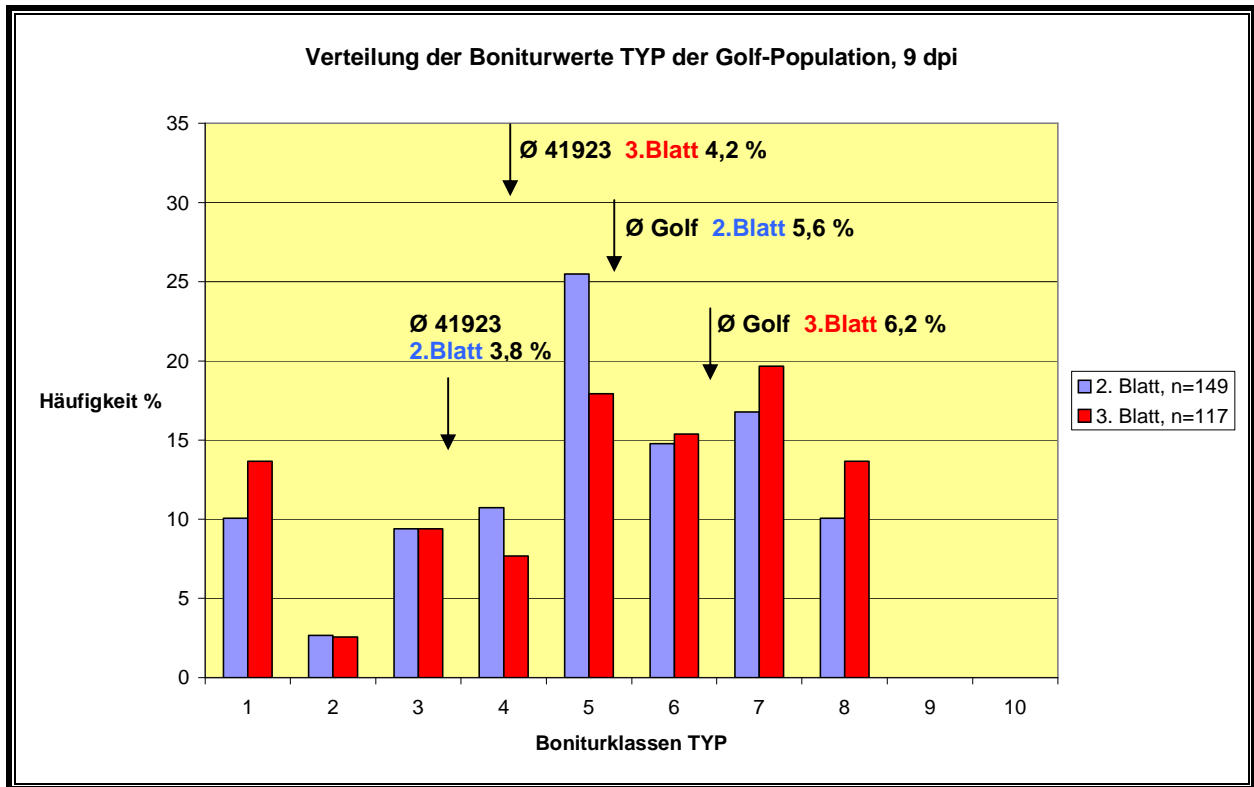
**Abb. 3.11:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Berolina x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



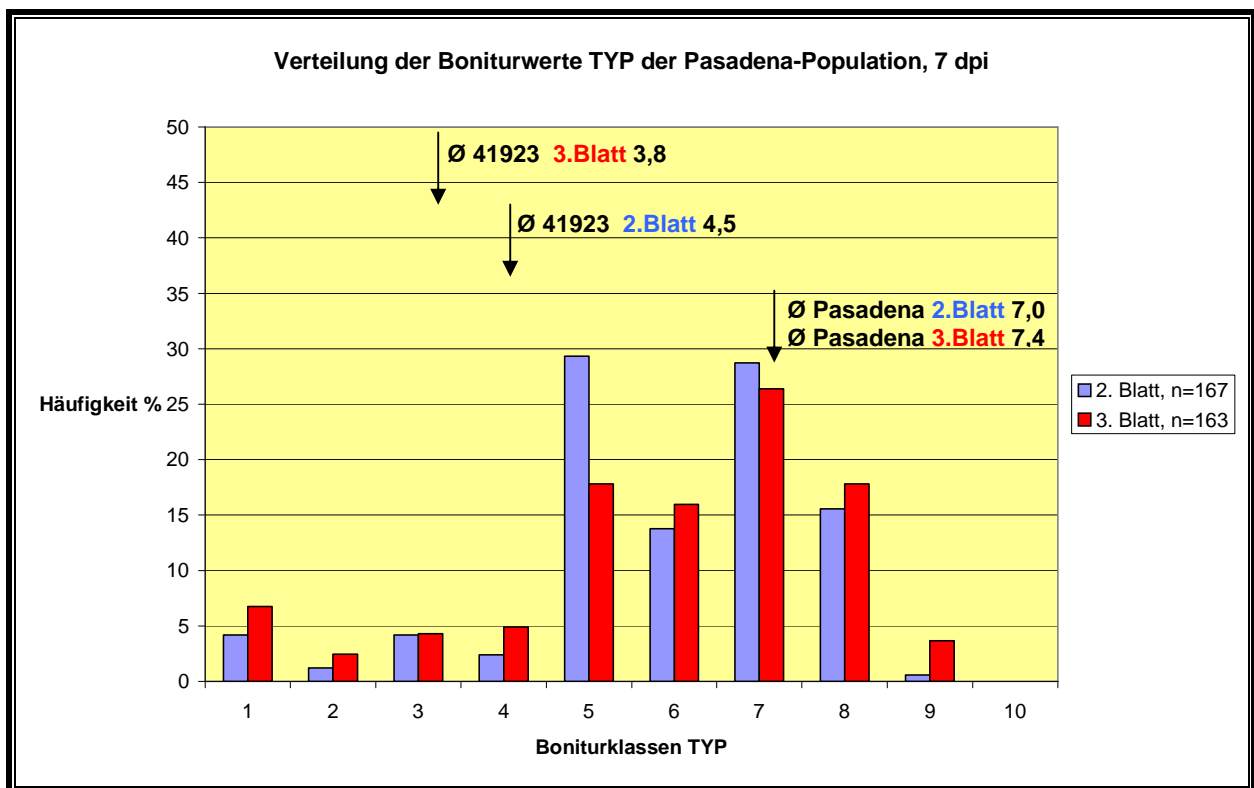
**Abb. 3.12:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Berolina x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



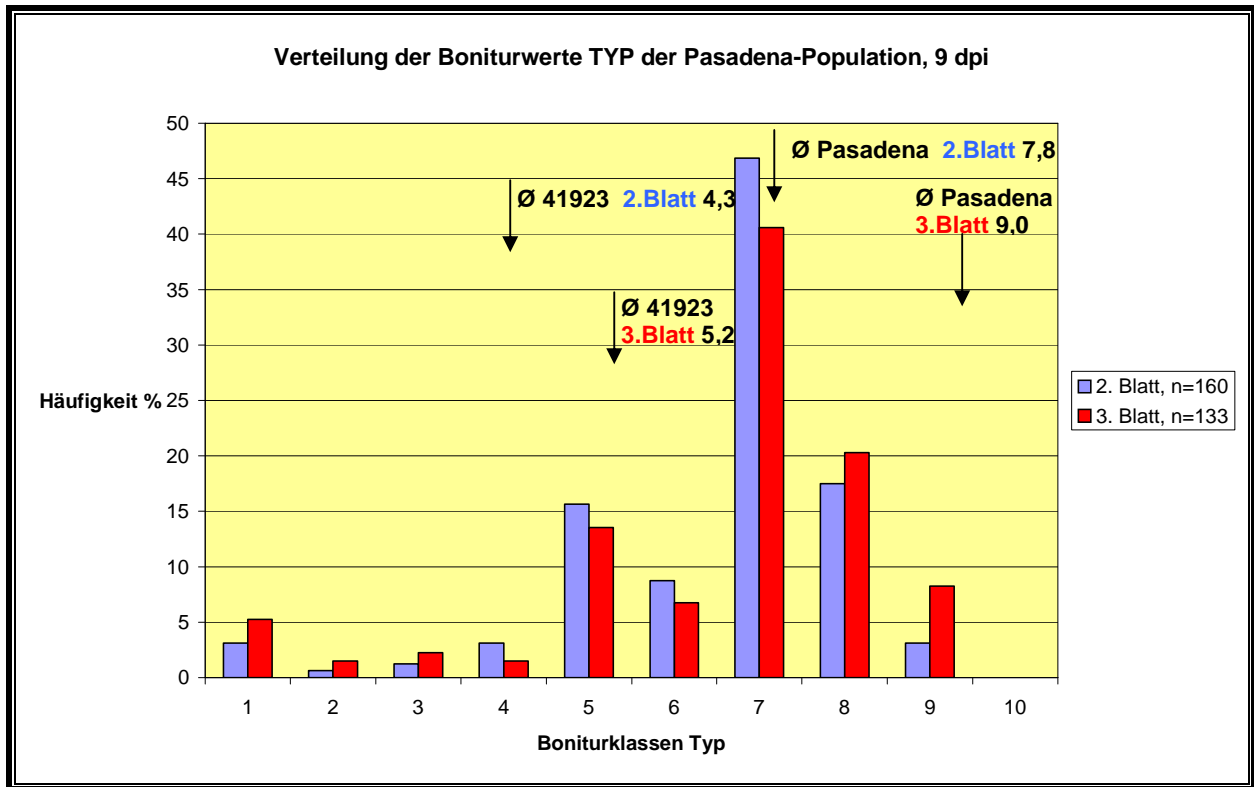
**Abb. 3.13:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Golf x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



**Abb. 3.14:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Golf x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern



**Abb. 3.15:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Pasadena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

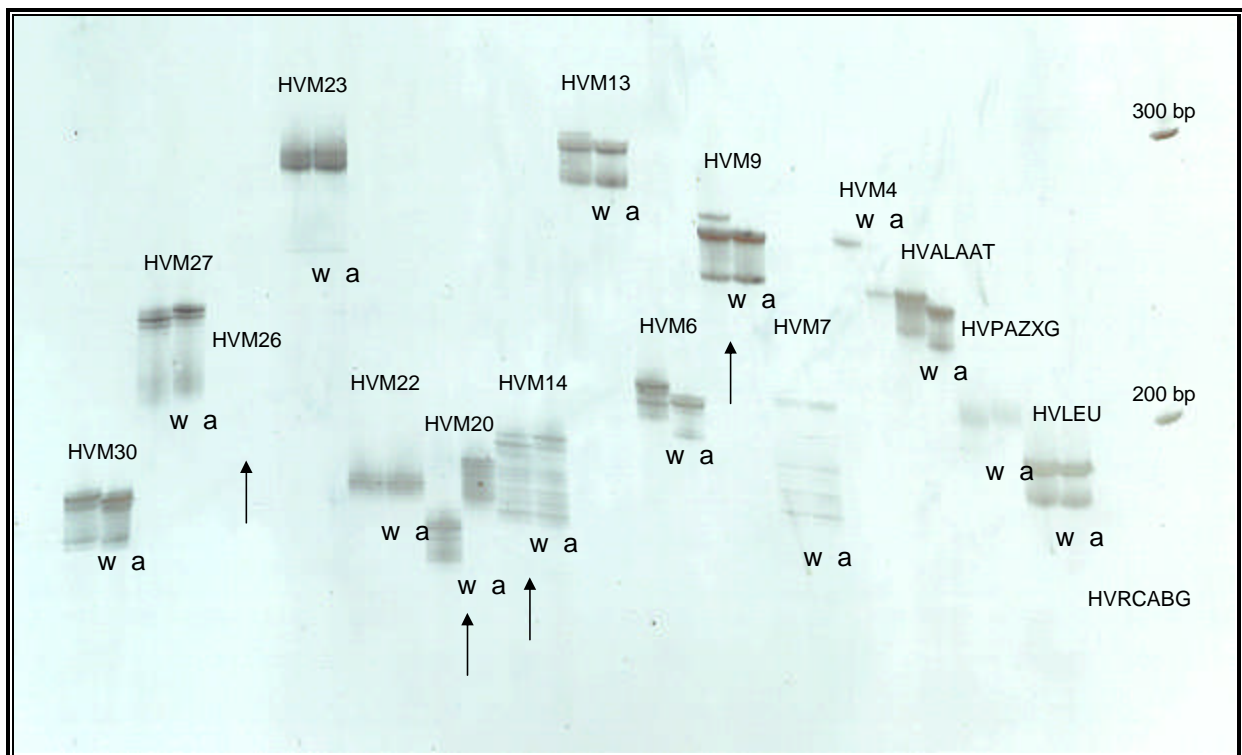


**Abb. 3.16:** Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Pasadena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern

### 3.5 SSR-Marker-Analyse

Die SSR-Markeranalyse ist durch mehrere Arbeitsschritte gekennzeichnet. Zu Beginn fand ein Polymorphie-Test zwischen den Eltern der Kreuzung Arena x 41923 statt. Anschließend konnten die polymorphen SSR-Marker zur Genotypisierung der Testpopulation und der Verifikationspopulationen eingesetzt werden.

Zum Zeitpunkt der Genotypisierung standen SSR-Marker aus den folgenden Arbeiten zur Verfügung: Becker and Heun (1995), Liu et al. (1996), Russell et al. (1997), Struss und Plieske (1998), Pillen et al. (2000) und Ramsay et al. (2000). Von den 288 auf Polymorphie getesteten SSR-Markern waren in der Kreuzung Arena x 41923 insgesamt 85 polymorph und 124 monomorph. Bei acht Markern führte nur die Anwendung des automatischen Sequenzierers Li-Cor zu auswertbar Ergebnissen. 34 der 288 SSR-Marker wiesen Doppelbanden auf, bei 45 Markern konnte keine Bindung zu der Elter-DNA festgestellt werden. Für die polymorphen Marker aus der Arbeit von Graner und Michalek (2000) wurden bis zur Auswertung der Markerdaten keine Angaben über deren Lokalisation veröffentlicht. Aus diesem Grunde wurden diese Datenpunkte in der Arbeit nicht weiter berücksichtigt.



**Abb. 3.17:** Beispiel für einen Test auf Polymorphie verschiedener SSR-Markern zwischen den Eltern Arena (a) und 41923 (w); (z. B.: HVM26: keine Bindung an die DNA; HVM20: polymorph; HVM14: nicht polymorph; HVM9: Doppelbande bei Wildelter)

### 3.5.1 Testpopulation Arena x 41923

In der nachfolgenden Marker-Karte (s. Abb. 3.18) sind alle SSR-Marker eingetragen, welche für den Polymorphie-Test zwischen den Eltern der Testpopulation Arena x 41923 verwendet wurden. Die Markerabstände sind nach Kosambi (1944) in *centi Morgan* (cM) angegeben. Die Einordnung der Marker beruht auf der Karte von Ramsay et al. (2000) und wurde mit Hilfe unter <http://www.GrainGenes.com> veröffentlichter Daten ergänzt.

Der durchschnittliche Abstand der polymorphen SSR-Marker beträgt 12,6 cM bei einer Genomgröße von 947 cM. An Hand der Grafik wird deutlich, dass in vielen Bereichen des Genoms eine gute Absättigung mit polymorphen Markern (in der Karte mit roter Schrift hervorgehoben, s. Abb. 3.18) erreicht wurde. In fünf Bereichen auf den Chromosomen 1H, 2H, 4H, 5H und 6H bestehen Lücken mit Markerabständen zwischen 30 und 39 cM. Lediglich auf dem langen Arm von Chromosom 1H befindet sich eine größere Lücke mit 55 cM und auf 6H eine Lücke mit 60 cM.

Die durchschnittliche Polymorphierate des gesamten Genoms beträgt ca. 36,5 % (s. Tab. 3.2). Die Polymorphierate einzelner Chromosomen weicht nur auf 2H mit einer niedrigeren Rate von knapp 20 % sowie auf 4H mit einer höheren Rate von 45,2 % deutlich vom Durchschnitt ab.

**Tab. 3.2:** Kennwerte der Chromosomen der Marker-Karte der auf Polymorphie getesteten SSR-Marker mit bekanntem Locus in Anlehnung an Ramsey et al. (2000)

Chromosom	Größe in cM	Summe Marker	Anzahl polymorphe Marker	Anzahl monomorphe Marker	Polymorphierate (%)	Ø Markerabstand (cM)
<b>1H</b>	158	26	10	16	38,5	15,8
<b>2H</b>	78	30	6	24	20,0	13,0
<b>3H</b>	149	37	15	22	40,5	9,9
<b>4H</b>	122	31	14	17	45,2	8,7
<b>5H</b>	177	28	11	17	39,3	16,1
<b>6H</b>	106	21	7	14	33,3	15,1
<b>7H</b>	157	32	12	20	37,5	13,1

Zu Beginn der Arbeit lag für den SSR-Marker HVPDIA nur die Chromosomenzugehörigkeit zu 4H vor. Im weiteren Verlauf konnte HVPDIA durch Verrechnung der Daten aus der Genotypisierung der gesamten BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Population Arena x 41923 mit dem Programm *Map Manager QTX* (Meer, J. et al., Roswell Park Cancer Institut, USA, 2002) in die eigene Karte bei 37,9 cM integriert werden. HVPDIA liegt damit zwischen den Markern EBmac0906 und EBmac0775 im Abstand von 0,9 cM bzw. 6,3 cM.

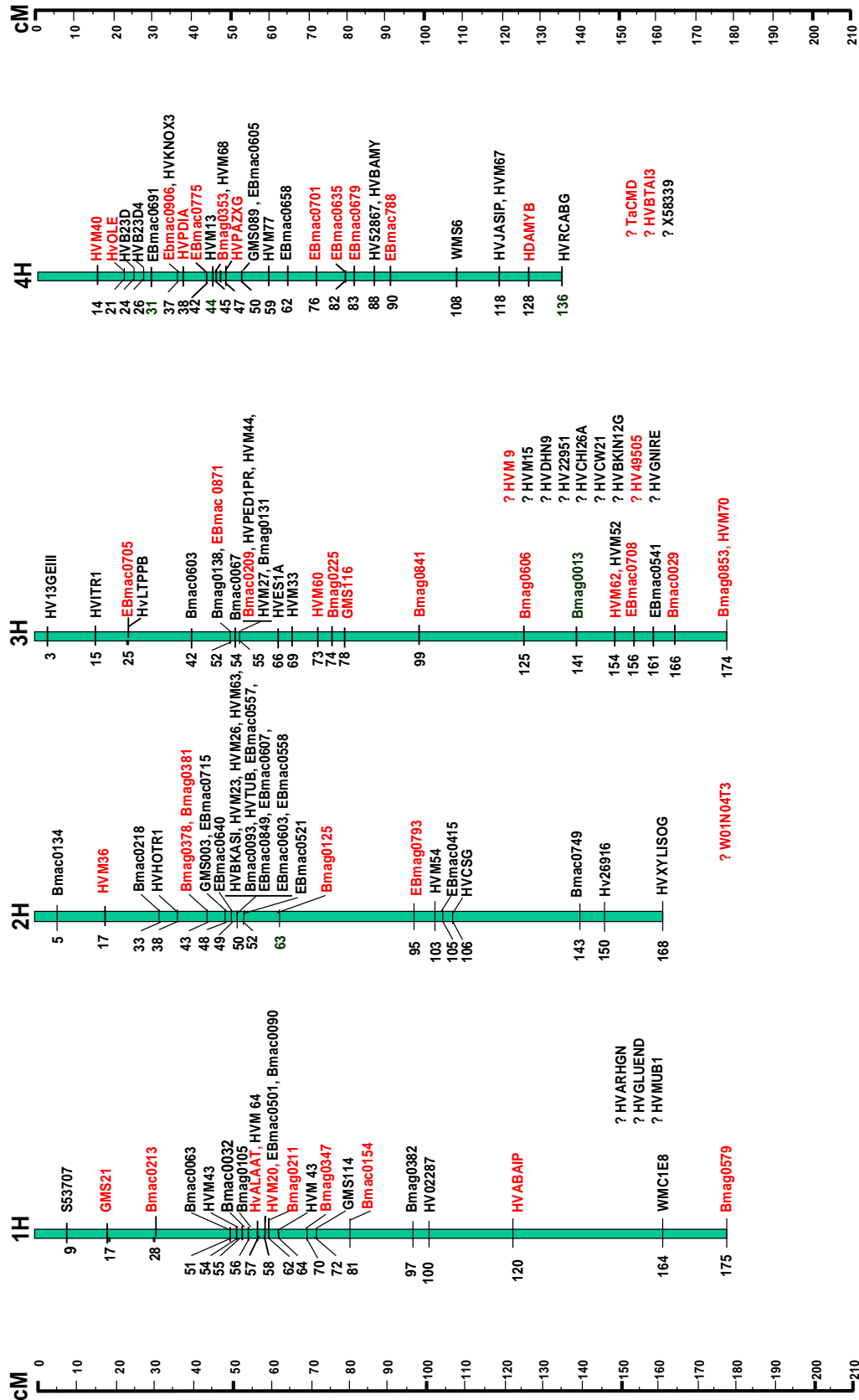
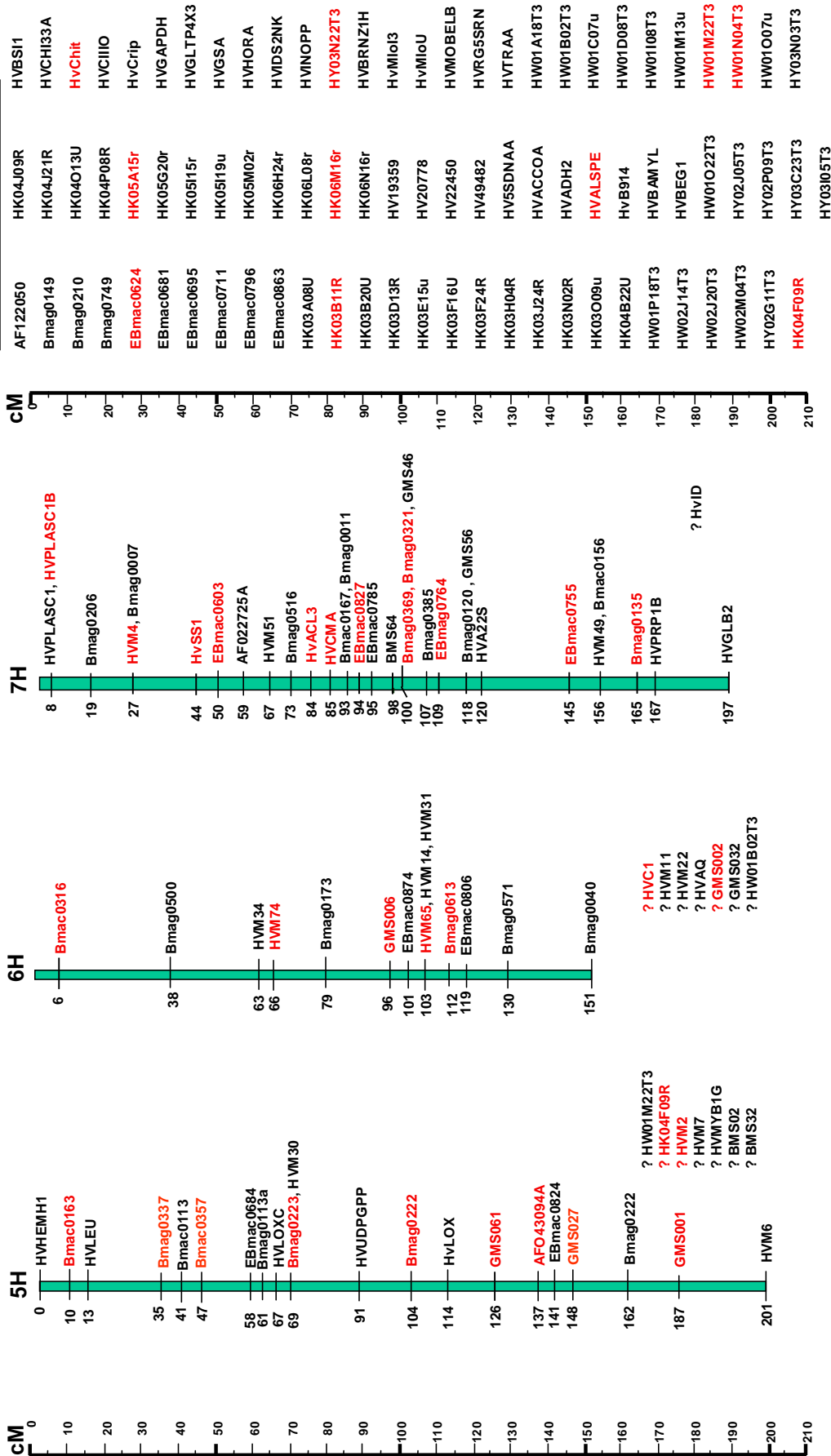


Abb. 3.18 (S. 49 und 50): Lokalisation aller getesteten SSR-Markern auf dem Gersten Genom (1H bis 7H) in Anlehnung an die Karte von Ramsay et al. (2000) und Ergänzung mit Hilfe von <http://www.GrainGenes.com> (rot = polymorphe SSR-Marker zwischen Arena und 41923)



SSR-Marker ohne bekannten Locus



Die zwei Extrema-Gruppen á 15 % der Testpopulation in der *Bulked Segregant Analysis* (s. Kap. 2.6.6, S. 29) wurden zuerst mit dem Verfahren der *single point analysis* (einfaktoriellen Varianzanalyse, QRL-Analyse) ausgewertet. Dabei zeigten zehn Marker-Loci auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H, 4H und 6H sehr hohe Signifikanzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) sowie gleichzeitig eine Allelfrequenzänderung zwischen den beiden Extrema-Gruppen. Dies deutet auf einen Zusammenhang mit der Resistenz gegen *P. teres* hin (s. Tab. 3.3).

**Tab. 3.3:** Liste der hoch signifikanten SSR-Marker der *single point* QRL-Analyse der beiden Extrema-Gruppen der Testpopulation

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	F-Wert	Irrtumswahrscheinlichkeit / Signifikanz * <sup>1</sup>	Anteil q an der Allelfrequenz * <sup>2</sup> : Gruppe resistenter Pflanzen / anfälliger Extrema-Gruppe
<b>GMS021</b>	1H	17	19,32	<,0001 ***	29 / 14 +
<b>HVM36</b>	2H	17	9,75	0,0008 ***	7 / 3 +
<b>Bmag0606</b>	3H	125	13,05	0,0001 ***	30 / 16 +
<b>EBmac0708</b>		156	10,08	0,0008 ***	19 / 12 +
<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,65	<,0001 ***	10 / 4 +
<b>HVPDIA</b>		37,9	18,34	<,0000 ***	11 / 3 +
<b>EBmac0635</b>		82	22,71	<,0001 ***	9 / 15 -
<b>EBmac0679</b>		83	21,84	<,0001 ***	10 / 14 -
<b>HVM74</b>	6H	66	35,98	<,0001 ***	2 / 8 -
<b>Bmag0613</b>		112	17,16	<,0001 ***	4 / 12 -

\*<sup>1</sup>) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) ,  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*)

\*<sup>2</sup>) ‘+’ Wildallelanteil in resistenter höher als in anfälliger Extrema-Gruppe, ‘-’ Wildallelanteil in resistenter niedriger als in anfälliger Extrema-Gruppe

Die theoretische Allelfrequenz zwischen Kulturelterallel (p) und Wildelterallel (q) an einem Locus beträgt in BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Generation 87,5 % zu 12,5 %. In der vorliegenden Arbeit wurden die Allelfrequenzen für die beiden Extrema-Gruppen aus den Bonituren der zweiten und dritten Blätter 7 Tage nach Inokulation berechnet. In der Tab. 3.3 sind die Anteile des Wildelterallels an der Allelfrequenz der jeweiligen Gruppe aufgeführt. Ist q in der resistenten Extrema-Gruppe höher als in der Gruppe der anfälligen Pflanzen, so ist dies mit einem (+) vermerkt sowie im umgekehrten Falle mit (-). Unter Einbeziehung der Allelfrequenzänderung in die Richtung des Wildelterallels der resistenten zu der anfälligen Extrema-Gruppe an den hoch signifikanten Loci sind die folgenden Marker identifiziert worden: GMS021 (1H), HVM36 (2H), Bmag0606 und EBmac0708 (3H) sowie EBmac0906 und HVPDIA (4H) (s. Tab. 3.3). In weiteren Genregionen auf Chromosom 4H und 6H zeigten hoch signifikante SSR-Marker ebenso

Allelfrequenzänderungen der resistenten Extrema-Gruppe. Diese wiesen jedoch eine Verschiebung in Richtung Kulturelterallel auf (s.Tab. 3.3). Um diese Resistenzen, welche möglicherweise aus dem Kulturelter stammen, mit zu berücksichtigen, wurde im weiteren Verlauf der Arbeit das Interesse in diesen Regionen auf die Marker EBmac0635 und EBmac0679 (4H) sowie auf HVM74 und Bmag0613 (6H) gelegt (s. Tab. 3.3). Für diese Auswahl war die Höhe des F-Wertes aus der *single point analysis* mitentscheidend. Die Marker HVABAIP (1H) und EBmac0788 (4H) zeigten zwar ebenfalls Allelfrequenzänderungen und hohe F-Werte, jedoch ergaben sich bei der Beurteilung der Bandenausprägung (Stotterbanden) Probleme. Auf Grund dessen wurden diese Marker nicht weiter berücksichtigt.

Weiterhin auffällig sind die Abweichungen der Allelfrequenzen an den Marker-Loci HVM36 (2H) und HVM74 (6H) (s. Tab. 3.3). Mit einem Wildelateralanteil der Gruppen resistenter / anfälliger Pflanzen von 7/3 und 2/8 konnten in beidem Extrema-Gruppen dieser Loci ein niedrigerer Allelanteil als des theoretischen Anteils des Wildelters von 12,5 % festgestellt werden.

**Tab. 3.4:** Ergebnisse der *single point analysis* der gesamten Arena-Population

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	F-Wert	Irrtumswahrscheinlichkeit*
<b>GMS021</b>	1H	17	6,58	<,0101 **
<b>HVM36</b>	2H	17	11,23	0,0008 ***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	43,26	0,0001 ***
<b>EBmac0708</b>		156	0,20	0,6567 n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	10,22	<,0011 ***
<b>HVPDIA</b>		37,9	10,58	<,0010 ***
<b>EBmac0635</b>		82	18,29	<,0001 ***
<b>EBmac0679</b>		83	21,38	<,0001 ***
<b>HVM74</b>	6H	66	15,79	<,0001 ***
<b>Bmag0613</b>		112	14,70	<,0001 ***

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)

Im zweiten Schritt wurden die zehn oben aufgeführten Marker (putativen QRL) in den restlichen 70 % der Testpopulation genotypisiert und mittels einer weiteren *single point analysis* analysiert. Die Ergebnisse bestätigen die hohen Signifikanzen der Marker aus den Extrema-Gruppen (s. Tab. 3.4). Bei dem Vergleich der Ergebnisse beider Tabellen (Tab. 3.3 und Tab. 3.4) erscheint der in der Verrechnung der 30 % der Testpopulation signifikante Marker EBmac0708 als einziger in der Analyse der gesamten Population als nicht signifikant. Zudem wurde durch die Analyse der gesamten Population die Signifikanz des Markers GMS021 (1H) gemindert. In der Betrachtung der Ergebnisse aus der gesamten Testpopulation mit 636 Pflanzen kann des

Weiteren eine Verschiebung bei der Höhe der F-Werte festgestellt werden. Der höchste F-Wert in der ersten *single point analysis* des Markers HVM74 mit knapp 36 sinkt in der Ergebnisdarstellung der gesamten Population auf 15,79. In Gegensatz dazu hebt sich nun in der Analyse der gesamten Testpopulation der Marker Bmag0606 (3H) mit einem F-Wert von 43,26 von den übrigen SSR-Markern ab. Die erklärte phänotypische Varianz ( $R^2$ , Tab. 3.4) dieser *single point analysis* lag bei ca. 52 %.

**Tab. 3.5:** Ergebnisse der *single point analysis* über die gesamte Arena-Population, Marker mit Durchschnittswerten des homozygoten Wildeltermgenotyps unter 10 % sind grau unterlegt (vergl. Tab. 3.6)

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Signifikanz*	F- Wert
GMS021	1H	17	*	4,03
Bmac0213		28	n.s.	0,57
HVALAAT		57	***	9,44
Bmag0347		70	***	15,10
HVM36	2H	17	***	6,94
Bmag0378		43	*	4,00
Bmag0841	3H	99	*	3,22
Bmag0606		125	***	30,17
HVM62		154	*	3,40
EBmac0708		156	n.s.	0,47
Bmac0029		166	n.s.	2,13
HVOLE	4H	21	***	16,60
EBmac0906		37	***	7,33
HVPDIA		37,9	***	6,93
EBmac0775		42	***	9,35
EBmac0635		82	***	19,01
EBmac0679		83	***	17,57
HVM74	6H	66	***	14,55
Bmag0613		112	***	9,37

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

Zur genaueren Lokalisation der putativen QRL wurde die gesamte Population zusätzlich mit neun flankierenden polymorphen Markern untersucht. Deren Signifikanzen aus einer weiteren *single point analysis* sowie der Ergebnisse eines Genotypenvergleiches aller getesteten Marker sind in der Tab. 3.5 dargestellt. Von den flankierenden Markern sind Bmac0213 (1H) und Bmac0029 (3H) nicht signifikant. Die flankierenden Marker HVALAAT (1H, \*\*\*), Bmag0347 (1H, \*\*\*), Bmag0378 (2H, \*), Bmag0841(3H, \*), HVM62 (3H, \*), HVOLE (4H, \*\*\*) und EBmac0775 (4H, \*\*\*) zeigen Signifikanzen in unterschiedlicher Stärke. Ebenso

wie in der ersten *single point analysis* weist Bmag0606 mit 30,17 den höchsten F-Wert der untersuchten Marker in der Analyse der gesamten Testpopulation auf.

**Tab. 3.6:** Ergebnisse der durchschnittlichen Befallsstärke (%) der *single point analysis* über die gesamte Arena-Population mit nicht transformierten Daten, Mittelwertsvergleich der Genotypen über Kontrast-Analyse, Marker mit Durchschnittswerten des homozygoten Wildeltergenotyps unter 10 % sind grau unterlegt

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Homozygot Kultureltergenotyp (% Befall, Mittelwertsvergleich)		Heterozygoter Genotyp (% Befall, Mittelwertsvergleich)		Homozygot Wildeltergenotyp (% Befall, Mittelwertsvergleich)	
GMS021	1H	17	16,4	A	14,0	B	14,8	A
Bmac0213		28	15,8	A	15,8	A	14,7	A
HVALAAT		57	14,9	B	17,8	A	15,7	A
Bmag0347		70	14,8	A	16,2	B	18,9	C
HVM36	2H	17	16,0	A	10,7	B	3,7	B
Bmag0378		43	15,7	A	9,4	B	19,8	A
Bmag0841	3H	99	15,7	B	16,0	A	14,6	B
Bmag0606		125	16,2	A	17,7	A	8,2	B
HVM62		154	16,0	A	15,7	A	13,1	B
EBmac0708		156	15,5	A	15,9	A	17,2	A
Bmac0029		166	15,6	A	15,7	A	16,1	A
HVOLE	4H	21	15,3	B	19,4	A	21,3	A
EBmac0906		37	15,9	A	15,3	A	7,9	B
HVPDIA		37,9	16,0	A	14,5	A	7,9	B
EBmac0775		42	15,9	A	12,3	A	8,3	B
EBmac0635		82	15,3	B	14,0	B	24,2	A
EBmac0679		83	15,1	B	15,2	B	23,3	A
HVM74	6H	66	15,2	B	23,2	A	16,6	B
Bmag0613		112	15,1	B	20,6	A	16,4	B

Bei der Betrachtung der durchschnittlichen Befallsstärken der einzelnen Genotypgruppen (homozygot Kulturelter, heterozygot, homozygot Wildelter, s. Tab. 3.6) ist bei fünf Loci eine Reduktionen der Befallsstärke von homozygoten Kulturelter-Pflanzen zu homozygoten Wildelter-Pflanzen von ca. 50 % ersichtlich. Diese fünf SSR-Marker kartieren auf Chromosom 2H (HVM36), 3H (Bmag0606) sowie 4H (EBmac0906, HVPDIA, EBmac0775). Der Mittelwertsvergleich der Befallswerte der drei Genotypgruppen über die Kontrast-Analyse zeigte bei diesen fünf Markern signifikante Unterschiede zu den homozygoten Wildeltergenotypen. Bei den Marker Bmac0213, EBmac0708 und Bmac0029 konnten die geringen Befallsunterschiede

der Mittelwert nicht signifikant voneinander unterschieden werden. Die sich über die sehr hohen F-Werte der Marker HVOLE, EBmac0635 und EBmac0679 auf 4H darstellenden Effekte in Kombination mit den steigenden Befallswerten von homozygoten Kulturelter-Pflanzen zu homozygoten Wildelter-Pflanzen beruhen vermutlich auf dem negativen Zusammenhang zur Resistenz gegen Netzflecken. Viele der heterozygoten Pflanzen zeigten im Verhältnis zu den homozygoten Kulturelter-Pflanzen nur geringe Befallsreduktionen oder -steigerungen. An den Loci der Marker HVM74 und Bmag0613 wiesen die heterozygoten Pflanzen jedoch um ca. 30 % gesteigerte Befallswerte und an dem Loci Bmag0378 um ca. 30 % reduzierte Befallswerte zu den homozygoten Pflanzen auf.

### Untersuchungen auf Wechselwirkungen zwischen den detektierten Loci

Um Erkenntnis über mögliche Wechselwirkungen zwischen den bisher einzeln betrachteten Genregionen zu erhalten, wurden die Daten der gesamten Testpopulation mittels einer mehrfaktoriellen Varianzanalyse, *combined analysis*, untersucht. Der Marker HVM62 wurde auf Grund von Ausfällen bei der *in vitro* Resistenztestung in dieser Verrechnungsmethode nicht berücksichtigt, da diese Ausfälle in dieser Analyse zu gravierenden Änderungen der gesamten Datenmatrix und damit zu Störungen der Analyse der übrigen zu untersuchenden Markern führten.

Für die *combined analysis* zur Betrachtung von Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Loci wurden die Marker in der absteigenden Reihenfolge ihrer F-Werte aus der *single point analysis* verrechnet. Dabei wurden die Marker mit steigendem Befall von homozygoten Kulturelter- zu Wildeltergenotyp in der Reihenfolge hinten angestellt, um deren erkennbare negative Effekte auf die Resistenzeigenschaft der Pflanzen eine geringere Bedeutung zu zuweisen. Die Ergebnisse dieser Analyse in Tab. 3.7 zeigen, dass durch die Einbeziehung von Wechselwirkungen zwischen allen untersuchten Loci die Marker Bmag0841, EBmac0906, EBmac0635 sowie HVM74 ihre Signifikanz und die Bedeutung für die Resistenz gegen *P. teres* verlieren. Der Marker GMS021 zeigte in dieser Verrechnung eine deutlichere Signifikanz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*). Die übrigen Marker wurden in ihrer Bedeutung für die Resistenz bestätigt.

Die Ergebnisse der *Random analysis* wiesen nur wenigen Marker-Loci eine Signifikanz zu. Der einzige hoch signifikante Marker mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*), war Bmag0606. Die niedrigeren Signifikanzen (\*, \*\*) beschrieben die Marker-Loci Bmag0347, HVOLE, EBmac0635, EBmac0679 und HVM74, welche im homozygoten Wildeltergenotyp oder im heterozygoten Genotyp steigenden Befallswerte von ca. 19 bis 24 % aufweisen.

**Tab. 3.7:** Signifikanzen der *single point*, *combined analysis* sowie *Random analysis* über die gesamte Testpopulation, Marker mit Durchschnittswerten des homozygoten Wildeltermotyps unter 10 % sind grau unterlegt (vergl. Tab. 3.6)

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	F- Wert <i>single point analysis</i>	Signifikanz <i>single point analysis</i> *	Signifikanz <i>combined analysis</i> *	Signifikanz <i>Random analysis</i> *
GMS021	1H	17	4,03	**	***	n.s.
Bmac0213		28	0,57	n.s.	n.s.	n.s.
HVALAAT		57	9,44	***	***	n.s.
Bmag0347		70	15,10	***	***	*
HVM36	2H	17	6,94	***	***	n.s.
Bmag0378		43	4,00	n.s.	n.s.	n.s.
Bmag0841	3H	99	3,22	*	n.s.	n.s.
Bmag0606		125	30,17	***	***	***
HVM62		154	3,40	n.s.	n.s.	n.s.
EBmac0708		156	0,47	n.s.	n.s.	n.s.
Bmac0029		166	2,13	n.s.	n.s.	n.s.
HVOLE	4H	21	16,60	***	***	*
EBmac0906		37	7,33	***	n.s.	n.s.
HVPDIA		37,9	6,93	***	***	n.s.
EBmac0775		42	9,35	***	***	n.s.
EBmac0635		82	19,01	***	n.s.	*
EBmac0679		83	17,57	***	***	**
HVM74	6H	66	14,55	***	*	*
Bmag0613		112	9,37	***	**	n.s.

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

### Untersuchungen auf Epistasie zwischen den detektierten Loci

Für die Fragestellung nach möglichen Interaktionen zwischen den Markern, den so genannten epistatischen Effekten, wurde zunächst eine *single point analysis* aller möglichen Kombinationen aus je zwei in der gesamten Testpopulation genotypisierten SSR-Markern durchgeführt. Von den insgesamt 152 möglichen Kombinationen konnte bei ca. 42 % keine homozygote Wildeltermotypkombination festgestellt werden. Anhand der Ergebnisse aus der *single point analysis* wurden die Marker-Kombinationen für nachfolgende Betrachtungen ausgewählt, welche im Durchschnittsbefall der homozygoten Wildeltermotypen einen Befallswert kleiner als 5 % aufwiesen (s. Tab. 3.8). Bestimmte Kombinationen von je zwei Resistenzregionen zeigten signifikante Reduktionen der Befallsstärke von bis zu 99 % auf einen Durchschnittsbefall < 1 % (s. Tab. 3.8, grau unterlegte Markerkombinationen).

Von den auf diesem Wege ausgewählten 32 Markerkombinationen (vgl. Tab. 3.8) zeigten 16 eine hohe Signifikanz ( $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*), zehn weitere Kombinationen sind bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*) und  $\alpha \leq 0,05$  (\*) signifikant. Bei sechs Kombinationen konnte in der *single point analysis* keine Signifikanz nachgewiesen werden. Eine Beurteilung aller möglichen Markerkombinationen war jedoch nicht möglich, da bei diversen Kombinations-möglichkeiten keine zusammengesetzten homozygoten Kultur- bzw. Wildeltermotypen innerhalb der Population auftraten.

In der Varianzanalyse der gesamten Testpopulation (s. Tab. 3.7) sind EBmac0906, EBmac0635 sowie HVM74 dann nicht mehr informativ, wenn alle in der gesamten Testpopulation genotypisierten Marker gleichzeitig in die Auswertung (*combined analysis*) einfließen. Jedoch zeigt sich, dass gerade diese Marker deutliche Interaktionseffekte mit anderen Markern aufweisen (z.B. EBmac0906\*EBmac0708, EBmac0906\*HVALAAT, EBmac0635\*Bmag0606, Bmag0841\*HVM74; s. Tab. 3.8). Diese entsprechen ausgeprägten epistatischen Effekten. Besonders erwähnenswert ist hierbei eine Interaktion zwischen den Markern EBmac0906 und EBmac0708 mit einem durchschnittlichen Befallswert des homozygoten Wildeltermotyp von 0,7 % (s. Tab. 3.8). Bei den signifikanten Interaktionen der Marker EBmac0906 und EBmac0708 wird deutlich, dass diese Marker in der Analyse der Auswahl von 30 % der Population auf einen Bezug zur Resistenzeigenschaft deuten. Dieser Zusammenhang war bei der *single point analysis* mit der gesamten Population nicht mehr nachweisbar. Jedoch wird in der Analyse der epistatischen Effekte die Bedeutung dieses Markers wieder herausgestellt.

Nach der Varianzanalyse der gesamten Testpopulation unter Einbeziehung der einzelnen und kombinierten Marker (s. Tab. 3.8) liegt der Anteil der erklärten phänotypischen Varianz ( $R^2$ ) bei ca. 44 %.



**Tab. 3.8:** Kombinationen zweier Marker-Loci in der gesamten Arena-Population mit Befallsstärken (%) der homozygoten Wildeltergenotypen unter 5 %

Marker-Kombination						Durchschnitts- befall der Genotypen		Signifikanz der Kombination *
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homoygot Kulturelter	Homoygot Wildelter	<i>single point analysis</i>
<b>Bmac0213</b>	1H	28	<b>Bmag0378</b>	2H	43	15,7	1,8	***
<b>GMS021</b>	1H	17	<b>Bmag0606</b>	3H	125	16,8	3,0	***
<b>HVALAAT</b>	1H	57	<b>EBmac0708</b>	3H	156	15,1	4,0	***
<b>HVALAAT</b>	1H	57	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,0	0,6	***
<b>HVALAAT</b>	1H	57	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	14,9	0,6	***
<b>HVALAAT</b>	1H	57	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,2	0,7	**
<b>Bmag0347</b>	1H	70	<b>EBmac0906</b>	4H	37	14,9	0,6	***
<b>Bmag0347</b>	1H	70	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	14,9	0,6	***
<b>Bmag0347</b>	1H	70	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,2	0,7	***
<b>GMS021</b>	1H	17	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,6	4,2	n.s.
<b>Bmac0213</b>	1H	28	<b>Bmag0613</b>	6H	112	14,8	4,2	*
<b>HVALAAT</b>	1H	57	<b>Bmag0613</b>	6H	112	13,6	4,1	*
<b>Bmag0347</b>	1H	70	<b>Bmag0613</b>	6H	112	13,6	4,2	**
<b>HVM36</b>	2H	17	<b>Bmag0606</b>	3H	125	16,5	3,7	n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>Bmag0841</b>	3H	99	15,8	2,4	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVM62</b>	3H	154	16,4	0,3	***
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>Bmag0841</b>	3H	99	15,3	0,8	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0906</b>	4H	37	16,3	1,8	**
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	16,3	1,8	**
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0635</b>	4H	82	15,9	2,4	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0679</b>	4H	83	16,0	2,2	***
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,6	0,7	***
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,5	0,7	***
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,7	0,7	**
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,9	2,4	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,9	2,4	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>HVM74</b>	6H	66	15,2	4,4	*
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,1	4,4	**
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>EBmac0775</b>	4H	42	16,1	4,3	n.s.
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	<b>EBmac0775</b>	4H	42	16,0	4,3	n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>EBmac0679</b>	4H	82	15,2	2,4	**
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	<b>EBmac0679</b>	4H	82	15,3	2,4	***

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

### 3.5.2 Verifikationspopulationen

Für die SSR-Markeranalyse der Verifikationspopulationen wurden die sechs hoch signifikanten Marker aus der ersten *single point analysis* der Arena-Kreuzung (Testpopulation) ausgewählt (s. Tab. 3.3 und Tab. 3.5). An diesen Loci trat eine deutliche Befallsminderung von homozygoten Kulturelter- zu Wildeltermgenotyp mit einer deutlichen Allelverschiebung der resistenten Extrema-Gruppe in Richtung Wildeltermallel auf. Eine Ausnahme bildete die Allelregion an GMS021, an welcher nur eine geringe Befallsminderung von dem homozygoten Kulturelter- zum Wildeltermgenotyp auftrat. In den nachfolgenden Analysen wurde dieser Marker jedoch mit einbezogen, da auch an diesem Locus eine deutliche Allelverschiebung der resistenten Extrema-Gruppe in Richtung Wildeltermallel auftrat.

Insgesamt konnten jedoch durch Monomorphie sowie durch undeutliche Bandenausprägung in einzelnen Fällen nicht alle ausgewählten Marker in jeder Verifikationspopulation eingesetzt werden. Diese Ausfälle wurden weitestgehend mit flankierenden Marker ersetzt. Für den in der Population Pasadena x 41923 monomorphen Marker HVM36 auf Chromosom 2H konnte in dieser Population jedoch kein anwendbarer Ersatz gefunden werden. Die nachfolgende Übersicht zeigt die Verifikationspopulationen und deren Polymorphie mit den eingesetzten Markern:

**Tab. 3.9:** In den Verifikationspopulationen eingesetzte SSR-Marker

SSR-Marker	BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Population Berolina x 41923	BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Population Golf x 41923	F <sub>2</sub> -Population Pasadena x 41923
<b>GMS021</b> (1H, 17 cM)	<i>monomorph</i>	<i>monomorph</i>	<i>monomorph</i>
<b>Ersatz:</b> 28 cM	<b>Bmac0213</b> (1H)	<b>Bmac0213</b> (1H)	<b>Bmac0213</b> (1H)
<b>HVM36</b> (2H, 17 cM)	polymorph	polymorph	<i>monomorph</i>
<b>Ersatz:</b>	-	-	-
<b>Bmag0606</b> (3H, 125 cM)	polymorph	polymorph	polymorph
<b>EBmac0708</b> (3H, 156 cM)	polymorph	<i>undeutliche Banden</i>	<i>undeutliche Banden</i>
<b>Ersatz:</b> 154 cM	-	<b>HVM62</b> (3H)	<b>HVM62</b> (3H)
<b>HVPDIA</b> (4H, 37,9 cM)	<i>monomorph</i>	<i>monomorph</i>	polymorph
<b>EBmac0906</b> (4H, 37 cM)	polymorph	<i>undeutliche Banden</i>	<i>undeutliche Banden</i>
<b>Ersatz:</b> 42 cM	-	<b>EBmac0775</b> (4H)	-

**Verifikationspopulation Berolina x 41923**

Die Pflanzen der Verifikationspopulation Berolina x 41923 zeigten nach der Inokulation mit *P. teres* einen allgemein geringen Befall (vgl. Abb. 3.3 und Abb. 3.4). Jedoch erscheint sowohl in der *single point analysis* (s. Tab. 3.10) als auch in der *combined analysis* (s. Tab. 3.11) dieser BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Population, ebenso wie in der Testpopulation der SSR-Marker EBmac0906, als hoch signifikant. Den übrigen untersuchten Markern konnten keine signifikanten Effekte zur Resistenz nachgewiesen werden.

Bei der Betrachtung der durchschnittlichen Befallsstärken der drei Genotypen innerhalb dieser Verifikationspopulation (s. Tab. 3.10) errechnet sich mit dem einzigen signifikanten SSR-Marker EBmac0906 ein durchschnittlicher Befall des homozygoten Wildeltergenotyps von 0,7 %. Dies entspricht einer Verringerung des Befalls gegenüber dem homozygoten Kultureltergenotyp um ca. 78 %. Der in dieser Auswertung nicht signifikante Marker Bmag0606 erbringt einen durchschnittlichen Befallswert des homozygoten Wildeltergenotyps von 0,3 %. Weiterhin auffällig ist, dass an dem Locus Bmag0213 in dieser Population kein homozygoter Wildeltergenotyp vorkommt.

**Tab. 3.10:** Ergebnisse der *single point analysis* und Mittelwerte der Befallsstärke (%) der homozygoten Kultur- und Wildeltergenotypen sowie des jeweiligen heterozygoten Genotyps der Berolina-Population

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Durchschnittsbefall der Genotypen (%)			F- Wert	Irrtumswahr- scheinlichkeit*
			Homozygot Kulturelter	Hetero- zygot	Homozygot Wildelter		
<b>Bmac0213</b>	1H	28	2,6	0,4	-	1,83	0,1762 n.s.
<b>HVM36</b>	2H	17	2,4	4,8	1,7	0,30	0,5830 n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	2,7	0,6	0,3	2,30	0,1301 n.s.
<b>EBmac0708</b>		156	2,9	0,7	1,6	2,66	0,1032 n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	3,2	1,8	0,7	12,67	0,0004 ***

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

**Tab. 3.11:** Ergebnisse der *combined analysis* der Berolina-Population

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Signifikanz*
<b>Bmac0213</b>	1H	28	n.s.
<b>HVM36</b>	2H	17	n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	n.s.
<b>EBmac0708</b>		156	n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	***

\*) Signifikanz:  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)

**Tab. 3.12:** Interaktionen der Berolina-Population mit Angabe deren mittleren Befallsstärken (%) der homozygoten Kultur- bzw. Wildeltermarkerkombinationen

Marker-Kombination						Durchschnittsbefall der Genotypen (%)		Signifikanz der Kombination*
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homozygot Kulturelter	Homozygot Wildelter	
<b>HVM36</b>	2H	17	<b>Bmag0606</b>	3H	125	2,4	0,4	n.s.
<b>HVM36</b>	2H	17	<b>EBmac0708</b>	4H	156	2,6	1,5	n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>EBmac0708</b>	4H	156	3,7	0,4	n.s.

\*) Signifikanz:  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)

In einem Vergleich der Effekte einzelner Marker (s. Tab. 3.10) zu Interaktionseffekten von Resistenzloci (s. Tab. 3.12) zeigen sich keine gesteigerten signifikanten Effekte hinsichtlich einer Befallsreduktion bei einer Inokulation mit *D. teres*-Konidien.

### Verifikationspopulation Golf x 41923

Die Resistenztestung der Verifikationspopulation Golf x 41923 zeigt insgesamt einen geringen Befall, so dass die Befunde der Testpopulation mit diesen Ergebnissen schwierig zu verifizieren sind. Die Ergebnisse der *single point analysis* (s. Tab. 3.13) dieser Population ergaben bei den SSR-Markern HVM62 und EBmac0775 eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*) sowie bei dem Marker Bmac0213 eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*). Der letztgenannte Marker zeigte sich ebenso in der *combined analysis* (s. Tab. 3.14) hoch signifikant. Jedoch waren dessen durchschnittliche Befallsstärken des homozygoten Wildeltermarkerkombinationen zum

homozygoten Kultureltergenotyp mit 12,7 % mehr als doppelt so hoch (s. Tab. 3.13). Durchschnittliche Befallsreduktionen von den homozygoten Kultureltergenotypen zu den homozygoten Wildeltermotypen zeigten sich an den Loci der Marker Bmag0606 und EBmac0775. Hingegen konnten bei den Markern HVM36 und HVM62 keine homozygoten Wildeltermotypen festgestellt werden. Der heterozygote Genotyp an Locus HVM36 lässt jedoch eine deutliche Befallsreduktion gegenüber dem homozygoten Kultureltergenotyp auf eine durchschnittliche Befallsstärke von 0,2 % erkennen (s. Tab. 3.14).

**Tab. 3.13:** Ergebnisse der *single point analysis* und Mittelwerte der Befallsstärke (%) der homozygoten Kultur- und Wildeltermotypen sowie des jeweiligen heterozygoten Genotyps der Golf-Population

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Durchschnittsbefall der Genotypen (%)			F-Wert	Irrtumswahrscheinlichkeit*
			Homozygot Kulturelter	Heterozygot	Homozygot Wildelterm		
<b>Bmac0213</b>	1H	28	5,0	6,5	12,7	24,02	<.0001 ***
<b>HVM36</b>	2H	17	6,1	0,2	-	2,45	0,1183 n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	6,0	5,0	0,2	1,63	0,2024 n.s.
<b>HVM62</b>		154	6,0	5,0	-	6,62	0,0102 **
<b>EBmac0775</b>	4H	42	6,4	3,8	2,5	9,32	0,0023 **

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

**Tab. 3.14:** Ergebnisse der *combined analysis* der Golf-Population

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Signifikanz*
<b>Bmac0213</b>	1H	28	***
<b>HVM36</b>	2H	17	**
<b>Bmag0606</b>	3H	125	n.s.
<b>HVM62</b>		154	n.s.
<b>EBmac0775</b>	4H	42	n.s.

\*) Signifikanz:  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

In den BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen der Kreuzung Golf x 41923 konnten keine Resistenzloci-Kombinationen zweier homozygoter Wildelter-Genotypen identifiziert werden, so dass in dieser Population keine Aussage über Interaktionseffekte hinsichtlich der Befallsreduktion möglich ist.

**Verifikationspopulation Pasadena x 41923**

Aus einer *single point analysis* der Verifikationspopulation Pasadena x 41923 geht der SSR-Marker HVM62 auf Chromosom 3H als hoch signifikant (\*\*\*) hervor. Bmag0606 zeigt als Nachbarmarker eine geringere Signifikanz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,05$  (\*). Auf Chromosom 4H stellt die *single point analysis* den Marker HVPDIA mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*) als signifikant dar. Dem Marker Bmag0213 auf 1H konnte keine Signifikanz nachgewiesen werden (s. Tab. 3.15).

**Tab. 3.15:** Ergebnisse der *single point analysis* der Pasadena-Population

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	Durchschnittsbefall der Genotypen (%)			F- Wert	Irrtumswahr- scheinlichkeit*
			Homozygot Kulturelter	Hetero- zygot	Homozygot Wildelter		
<b>Bmac0213</b>	1H	28	15,9	-	18,1	0,75	0,4713 n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	22,6	16,9	8,8	3,22	0,0407 *
<b>HVM62</b>		154	15,7	18,2	12,5	13,01	<,0001 ***
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	19,9	13,4	14,4	6,73	0,0013 **

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  
 $\alpha =$  n.s. (nicht signifikant)

Bei der Verifikationspopulation Pasadena x 41923 zeigte sich, dass die SSR-Marker auf Chromosomen 3H und 4H eine Beziehung zu der Krankheitsresistenz gegen *P. teres* aufweisen. Bei den homozygoten Wildeltergenotypen konnte nur an dem Locus des Markers Bmag0606 eine deutliche Befallsreduktion von 22,6 % des Befalls des homozygoten Kultureltergenotyps auf 8,8 % detektiert werden (s.Tab. 3.15). In der *combined analysis* wird diesem Marker eine hohe Signifikanz mit der Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) zugewiesen (s. Tab. 3.16).

**Tab. 3.16:** Ergebnisse der *combined analysis* der Pasadena-Population

SSR-Marker	Chromosom	F-Wert	Signifikanz*
<b>Bmac0213</b>	1H	0,20	n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	14,75	***
<b>HVM62</b>		3,11	*
<b>HVPDIA</b>	4H	5,58	**

\*) Signifikanz:  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)

In dieser Population zeigt die signifikante Interaktion des Markers HVPDIA (4H) und Bmag0606 (3H) ein ähnliches Muster wie die Interaktion zwischen HVPDIA und EBmac0708 (3H) in der Testpopulation (vgl. Tab. 3.17 mit Tab. 3.8). Bei dieser Verifikationspopulation handelt es sich um eine F<sub>2</sub>-Population mit entsprechend großen Konfidenzintervallen zwischen den Markern, so dass die gefundenen Interaktionen durchaus von einem QRL stammen könnten, der zwischen EBmac0708 und Bmag0606 lokalisiert ist. Damit könnte dieselbe Genregion, d.h. derselbe QRL, in beiden Populationen für die Ausprägung verantwortlich sein.

Die Verrechnungen der Daten aus den Verifikationspopulationen konnten die Ergebnisse für alle polymorphen SSR-Marker aus der Arena-Population bestätigen.

**Tab. 3.17:** Interaktionen der Pasadena-Population mit Angabe deren mittleren Befallsstärken (%) der homozygoten Kultur- bzw. Wildeltergenotypkombinationen

Marker-Kombination						Durchschnittsbefall der Genotypen		Signifikanz der Kombination*
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homozygot Kulturelter	Homozygot Wildelter	
<b>Bmac0213</b>	1H	28	<b>Bmag0606</b>	3H	125	22,6	9,0	n.s.
<b>Bmac0213</b>	1H	28	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	20,6	28,0	n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVM62</b>	3H	154	27,0	9,2	n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	24,7	0,8	*
<b>HVM62</b>	3H	154	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	20,4	23,2	n.s.

\*) Signifikanz:  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)

### 3.6 Korrelation von Boniturmerkmalen Befallsstärke und Typ

Die Korrelationsberechnung zwischen den Boniturmerkmalen Befallsstärke und TYP mittels des Statistikprogramms SAS ergab einen Spaermanschen Korrelationskoeffizienten von 0,91243. Demnach besteht ein enger Zusammenhang zwischen diesen beiden Merkmalen.

In der *single point analysis* der Testpopulation Arena x 41923 hinsichtlich des Boniturmerkmals TYP konnten zehn SSR-Markern eine hohe Signifikanz mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) nachgewiesen werden. Sechs dieser Marker sind Loci der putativen QRL des Merkmals Befallsstärke (GMS012, Bmag0347, Bmag0606, HVPDIA, EBmac0906 und Bmag0613). Der QRL auf Chromosom 2H des Merkmals Befallsstärke spiegelte sich in den Ergebnissen des TYPs nicht wieder. Alle vier Marker dieses Chromosoms zeigten niedrige F-Werte und hohe Irrtumswahrscheinlichkeiten. Ebenso wenig zeigten die Loci auf 5H und 7H einen Bezug zur untersuchten Resistenz. Auf Chromosom 3H konnte jedoch eine neue hoch signifikante Verbindung zwischen Resistenzeigenschaft und einer Genregion (EBmac0705, EBmac0871 und Bmag0209) beobachtet werden, welche im Bezug auf die Befallsstärke scheinbar keine Bedeutung hatte.

**Tab. 3.18:**Ergebnisse der *single point analysis* der beiden Extrema-Gruppen der Testpopulation hinsichtlich des Merkmals TYP und dem Vergleich der Signifikanzen der Befallsstärke (S. 65-66)

SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	F-Wert TYP	Irrtumswahrscheinlichkeit TYP	Signifikanz TYP	Signifikanz Befall
GMS021	1H	17	25.46	<.0001	***	***
Bmac0213		28	0.02	0.8869	n.s.	n.s.
HVALAAT		57	2.05	0.1522	n.s.	*
HVM20		58	3.65	0.0563	n.s.	n.s.
Bmag0211		62	2.10	0.1474	n.s.	n.s.
Bmag0347		70	18.95	<.0001	***	***
Bmac0154		81	1.58	0.2087	n.s.	*
HVABAIP		120	0.75	0.3869	n.s.	***
Bmag0579		175	0.26	0.6092	n.s.	n.s.
HVM36		2H	17	0.37	0.5432	n.s.
Bmag0378	43		0.00	0.9723	n.s.	n.s.
Bmag0125	63		0.92	0.3389	n.s.	**
EBmag0793	95		0.36	0.5498	n.s.	*
EBmac0705	3H	25	11.72	0.0006	***	n.s.
EBmac0871		52	18.12	<.0001	***	n.s.
Bmac0209		55	18.37	<.0001	***	n.s.
HVM60		73	0.34	0.5611	n.s.	n.s.
Bmag0225		74	11.79	0.0006	***	n.s.



SSR-Marker	Chromosom	Position in cM	F-Wert TYP	Irrtumswahrscheinlichkeit TYP	Signifikanz TYP	Signifikanz Befall
GMS116		78	2.52	0.1125	n.s.	n.s.
Bmag0841		99	4.03	0.0449	*	n.s.
Bmag0606		125	18.24	<.0001	***	***
HVM62		154	9.09	0.0026	**	n.s.
EBmac0708		156	7.93	0.0050	**	***
Bmac0029		166	0.32	0.5737	n.s.	n.s.
HVM70		174	0.58	0.4469	n.s.	n.s.
Bmag0853		174	7.25	0.0072	**	***
HVOLE	4H	14	0.83	0.3616	n.s.	**
HVM40		14	5.69	0.0172	*	n.s.
EBmac0906		37	33.50	<.0001	***	***
HVPDIA		37,9	33.46	<.0001	***	***
EBmac0775		42	0.66	0.4158	n.s.	n.s.
EBmac0755		42	0.83	0.3638	n.s.	n.s.
Bmag0353		45	7.55	0.0061	**	n.s.
HVPAZXG		47	0.09	0.7584	n.s.	n.s.
EBmac0701		76	2.91	0.0882	n.s.	***
EBmac0635		82	1.65	0.1986	n.s.	***
EBmac0679		83	0.91	0.3391	n.s.	***
EBmac0788		90	6.98	0.0083	**	***
HDAMYB		128	0.01	0.9101	n.s.	*
Bmac0163	5H	10	0.02	0.9007	n.s.	*
GMS061		49	0.30	0.5821	n.s.	*
HVLOXC		67	9.26	0.0024	**	n.s.
Bmag0223		69	6.36	0.0118	*	n.s.
Bmag0222		104	4.56	0.0329	*	n.s.
AF043094A		137	0.36	0.5472	n.s.	n.s.
GMS001		187	.* <sup>1</sup>	.	.	.
Bmac0316	6H	6	4.84	0.0280	*	n.s.
HVM74		66	8.28	0.0041	**	***
GMS006		96	3.85	0.0500	*	***
HVM65		103	0.00	0.9660	n.s.	***
Bmag0613		112	11.31	0.0008	***	***
HVPLASC1B	7H	8	5.54	0.0188	*	n.s.
HVM4		27	1.11	0.2925	n.s.	*
HVSS1		44	7.61	0.0059	**	*
EBmac0603		50	0.50	0.4781	n.s.	*
HVACL3		84	0.92	0.3374	n.s.	n.s.
HVCMA		85	0.02	0.9009	n.s.	n.s.
EBmac0827		94	0.34	0.5620	n.s.	n.s.
Bmag0369		98	0.16	0.6902	n.s.	n.s.
Bmag0321		100	0.47	0.4941	n.s.	n.s.
EBmac0764		109	.* <sup>1</sup>	.	.	.
Bmag0135		165	2.95	0.0861	n.s.	n.s.

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = n.s.$  (nicht signifikant)

\*<sup>1</sup>) zwischen Eltern polymorph, in Population monomorph

### 3.7 Darstellung der detektierten QRLs für die Resistenz gegen *P. teres*

In den nachfolgenden zwei Abbildungen sind die detektierten QRLs für die Resistenz gegen *P. teres* dargestellt, welche in den vorherigen Kapiteln durch hohe Signifikanzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) und Allelfrequenzverschiebungen beschrieben worden sind. Abb. 3.19 zeigt die Verteilung der QRLs der beiden Merkmale Befallsstärke und TYP über das Gerstengenom. Für das Hauptmerkmal Befallsstärke konnten acht QRLs (PtBIa, PtBIb, PtBII, PtBIIIa, PtBIIIb, PtBIVa, PtBIVb und PtBVI) und für das Merkmal TYP, die Symptomausprägung, konnten sechs QRLs (PtTIIa, PtTIIb, PtTIIIa, PtTIIIb, PtTIV und PtTVI) detektiert werden. Auf Chromosomen 5H sowie 7H konnten keine QRL für die untersuchten Merkmale nachgewiesen werden. Abb. 3.20 veranschaulicht des Weiteren die festgestellten epistatischen Effekte der signifikanten befallsreduzierenden Interaktionen je zweier Resistenzregionen (vgl. Tab. 3.8, s. S. 58) für die Resistenz gegen *P. teres* in der Population Arena x 41923.

Durch den Vergleich der Größe des F-Wertes der genotypisierten SSR-Marker konnten keine zusätzlichen Informationen zur möglichen Konzentrierung der nahe gelegenen QRL der Chromosomen 1H (Pt BIa und Pt BIb) sowie 3H (Pt BIIIa und Pt BIIIb) auf einen einzelnen Loci gewonnen werden.

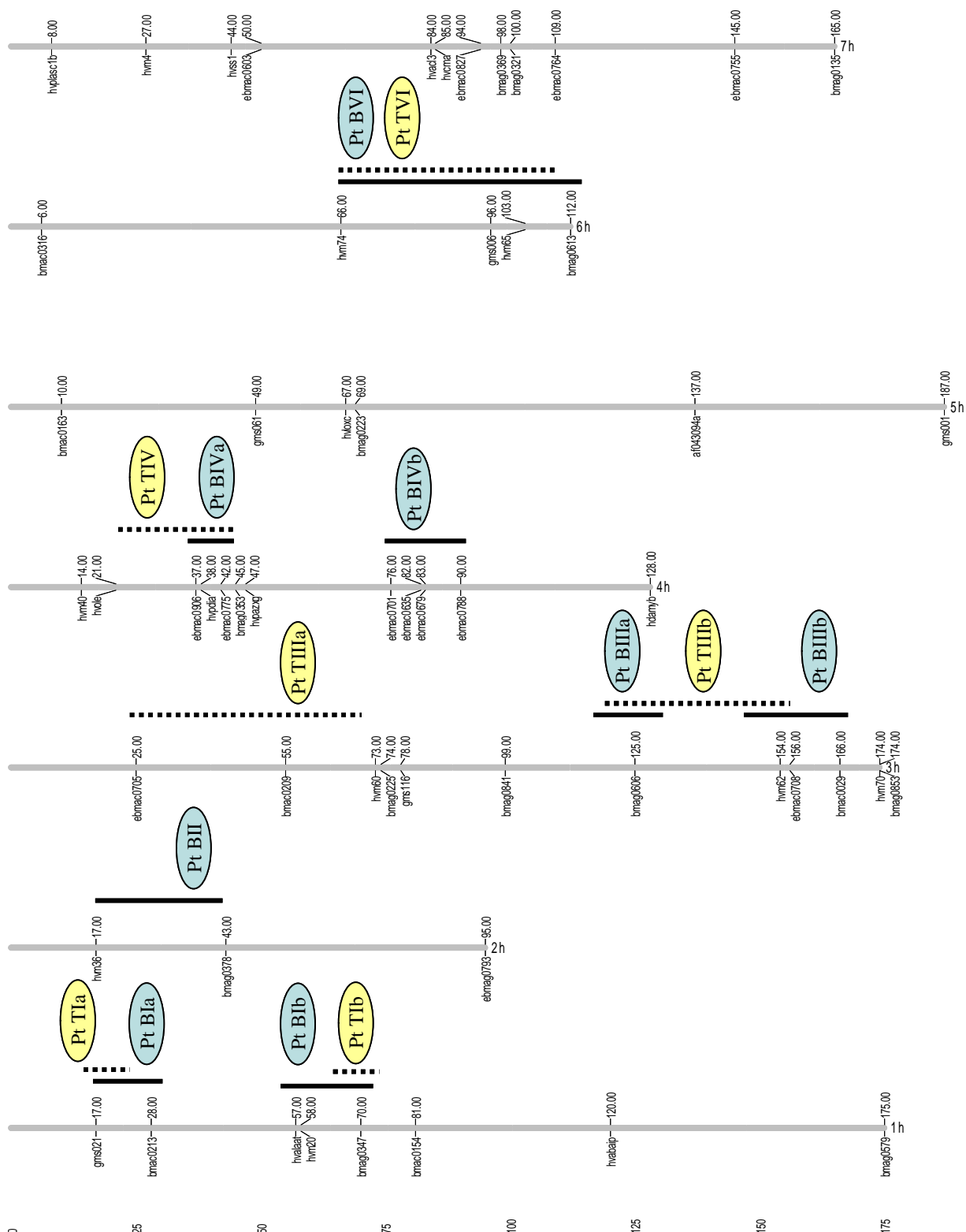
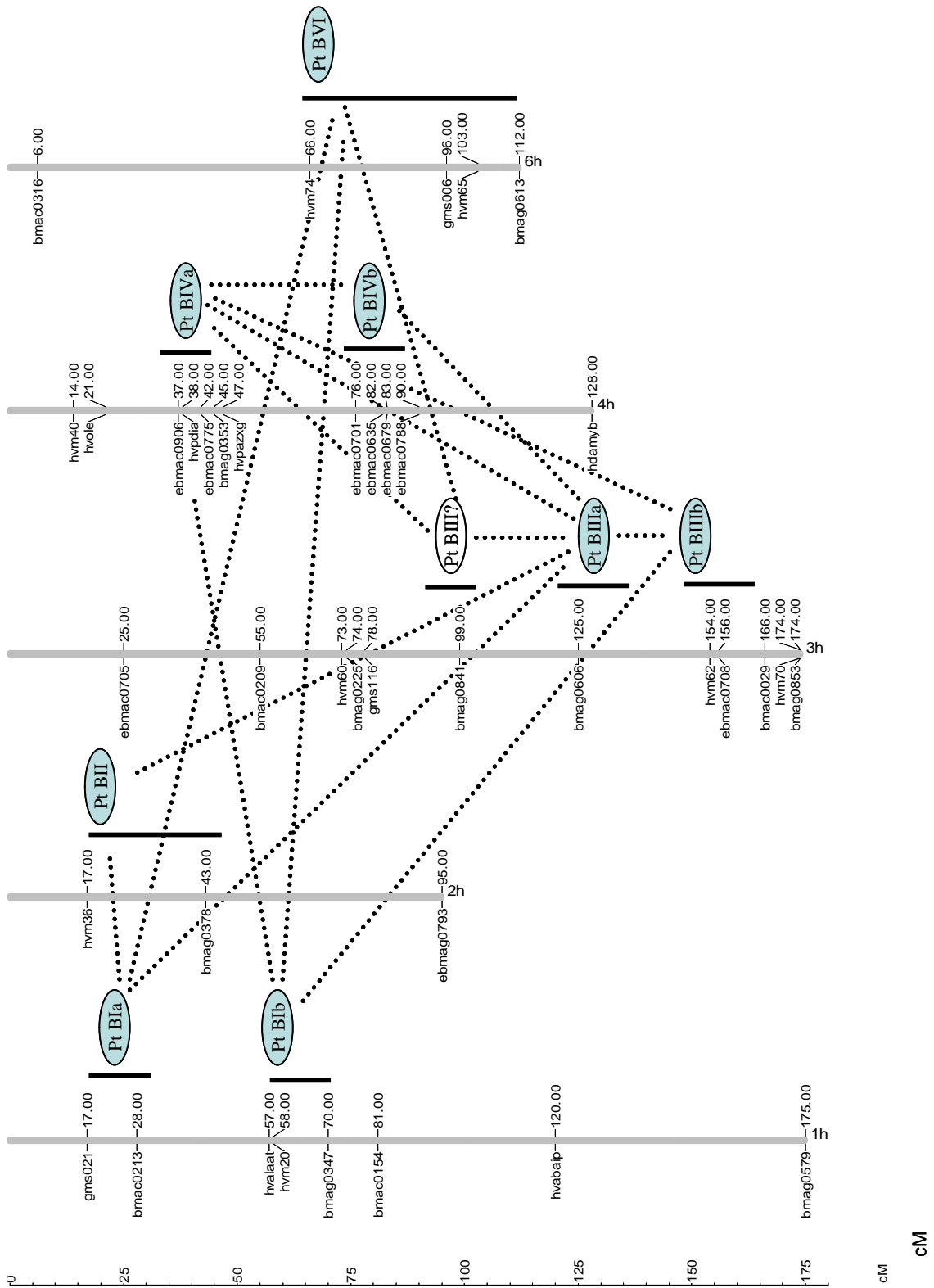


Abb. 3.19: QRL der Merkmale Befallsstärke (Linie mit Beschriftung Pt B..) und TYP (durchbrochene Linie mit Beschriftung Pt T..)



**Abb. 3.20:** Darstellung der acht QRL für die Resistenz gegen *P. teres* in der Population Arena x 41923, durchbrochene Linien stellen die befallsreduzierenden Kombinationen je zweier Resistenzregionen dar, welche in den Varianzanalysen signifikant erschienen (s. Tab. 3.8)

## 4. Diskussion

Ziel dieser Arbeit war die Introgression von Resistenzgenen gegen *Pyrenophora teres* (Netzflecken an Gerste) aus Wildgerste (*H. vulgare ssp. spontaneum*) in Kulturgerste (*H. vulgare ssp. vulgare*) unter der Annahme einer quantitativen Vererbungsart. Dabei wurde der Frage nach der Anwendung der Methode des *Bulked segregant analysis* bei einem quantitativen Merkmal sowie der Frage nach möglichen epistatischen Effekten zwischen den Resistenzgenen nachgegangen.

Für diesen Zweck wurden *in vitro* Resistenztestungen an BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Populationen und einer F<sub>2</sub>-Population aus vier deutschen Kultursorten mit dem Wildallel-Donor einer israelischen Landsorte eingesetzt und mit SSR-Marker analysiert. Nach der Anwendung der Methode der *Bulked segregant analysis* wurden die Einzelpflanzen der beiden daraus hervorgegangenen Extrema-Gruppen der Testpopulation genotypisiert. An Hand der Ergebnisse dieser Daten konnten mit Hilfe einer *single point analysis* aussagekräftige SSR-Marker bezüglich der Resistenz gegen *P. teres* ausgewählt werden. Mit diesen Markern erfolgte die Genotypisierung der gesamten Testpopulation sowie der drei Verifikationspopulationen.

Die hieraus resultierenden Ergebnisse ließen nach weiteren *single point* und *combined analysis* aller vier Populationen putative QRL (*Quantitative resistance loci*) sowie epistatische Effekte erkennen.

### 4.1 Material

Um eine hohe Variabilität der Allelkombinationen zu gewährleisten und diese in den Generationen zu sichern, wurde eine Testpopulation aus 16 BC<sub>1</sub>-Pflanzen mit einer umfangreichen spaltenden Nachkommenschaft von 807 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen ausgewählt. Damit ist der von Cox (1984a und 1984b) empfohlene Umfang von 12 BC<sub>1</sub>-Pflanzen für genetische Untersuchungen in Rückkreuzungspopulationen erfüllt, welche an Hand seiner statistischen Untersuchungen eine ausreichende genetische Varianz in dieser Population gewährleisten soll.

Bei dem Einsatz eines Inokulums aus mehreren *P. teres*-Isolaten kann jedes einzelne von ihnen unterschiedliche Resistenzgene ansprechen und so zu Fehldeutungen bei der Detektion putativer QRL führen. Um diese Fehlerquelle auszuschließen, wurde für die Inokulation ein Einspor-Isolat des Erregers der Netzfleckenkrankheit eingesetzt. Das verwendete *P. teres* Isolat 67/1 zeigte gegenüber zwei weiteren zur Verfügung gestandenen Isolaten bei den Resistenztestungen der verwendeten Kreuzungseltern die höchste Aggressivität zur Wirtspflanze. Zwischen den vier anfälligen Kultureltern (Arena, Berolina, Golf, Pasadena) und dem nahezu

resistenten Wildelter 41923 konnten die deutlichsten Unterschiede in der Symptomausprägung zwischen Arena und 41923 festgestellt werden. Diese Eigenschaft bestimmte neben der großen Anzahl der BC<sub>1</sub>-Pflanzen (s.o.) die Wahl dieser Kreuzung, Arena x 41923, als Testpopulation.

## 4.2 Resistenztestung

Die in dieser Arbeit angewendete Methode der *in vitro* Resistenztestung wurde in Anlehnung an das etablierte Verfahren der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Kopahnke (BAZ, Aschersleben) mit einer mittleren Inokulumkonzentration von 5.000 Konidien/ml eingesetzt. Die meist beschriebenen Konzentrationen von *Drechslera teres*-Inokuli bewegen sich im Rahmen von 1.000 Konidien/ml (Jonsson et al. 1997; Rau et al. 2003) über 3.000 Konidien/ml (Hartleb und Meyer 1988; Leistner et al. 1995) bis zu Konzentrationen von 10.000 Konidien/ml (Ho und Tekauz 1996; Khan 1982). Die beschriebene Konzentration von 40.000 Konidien/ml in einer Untersuchung an türkischen Gerstensorten mit drei verschiedenen Einspor-Isolaten von *P. teres* bildet hier die Ausnahmen (Khan 1971). In einer neueren Studie mit verschiedenen Versuchsreihen von 1.250 und 20.000 Konidien/ml von Jalli und Robinson (2000) zeigten die mit *P. teres* inokulierten Pflanzen kaum Unterschiede hinsichtlich der Infektion und der Befallsstärke.

## 4.3 Genotypisierung mit SSR-Markern

In der Gentechnik wurde der Einsatz molekularer Marker durch die Entwicklung der PCR (*polymerase chain reaction*)-Technik erweitert. Mit Hilfe dieser Technik wurde es möglich DNA-Fragmente in großer Anzahl identisch zu kopieren. Insbesondere RAPD-, AFLP- sowie SSR-Marker (Mikrosatelliten) fanden hierdurch ihren Einsatz in der Erforschung genetischer Diversitäten als auch auf dem Gebiet der Lokalisation von QTL (*Quantitative trait loci*).

Bei der Durchführung der vorliegenden Arbeit wurden SSR- (*simple sequence repeats*)-Marker eingesetzt, welche repetitiver DNA entsprechen. Diese meist längenpolymorphen Marker bestehen aus kurzen Sequenzen von 1-6 bp, welche sowohl in den Chromosomen als auch z.B. in RNA-Transkripten bis zu 100 mal tandemartig wiederholt vorkommen können. Diese Sequenzbereiche sind in nicht codierten ebenso wie in codierten Bereichen zu finden und in der Regel kleiner als 200 bp. Die Herstellung dieser Markerklasse kann über Ableitung bekannter Sequenzinformationen (Becker und Heun 1995; Pillen et al. 2000; Ramsay et al. 2000), sowie mit Hilfe genomischer Phagenbanken erfolgen (Liu et al. 1996).

Die zufällige Entstehung dieser einfachen Sequenzen in einer Zelle während der DNA-Replikation und deren dadurch bedingte große Häufigkeit sowie die regelmäßige Verteilung über das gesamte Genom zeichnen SSR-Marker mit einem hohen Informationsgrad aus. Diese Eigenschaften und die kodominante Auswertung von SSR-Markern führten zur Wahl dieser Markerklasse für die Bearbeitung der vorliegenden Arbeit.

In der Kreuzung Arena x 41923 waren 85 der 288 SSR-Marker, die zum Zeitpunkt der Genotypisierung zur Verfügung standen, polymorph. Bei acht Markern führte nur die Anwendung des automatischen Sequenzierers Li-Cor (Li-Cor, Bad Homburg) zu auswertbaren Ergebnissen. 34 der geprüften SSR-Marker wiesen Stotterbanden auf. Im Ganzen waren 43 % der 288 Marker monomorph. Bei 15,6 % konnte keine Bindung zur Eltern-DNA hergestellt werden.

An Hand der Lokalisation der polymorphen SSR-Marker in Anlehnung an die Karte von Ramsay *et al.* (2000) ergibt sich eine Genomgröße von 947 cM. Dies entspricht den in der Literatur häufig beschriebenen Größen genetischer Kopplungskarten der Gersten von Genomgrößen um 1.000 cM. In einer F<sub>2</sub>-Population Apex x ISR 101-23 wird die Genomgröße mit 539 cM beschrieben (Zacharias 2002). Pillen (2002) entwirft auf der Grundlage von 59 SSR-Marker-Loci die Größe des Gerstengenoms mit 830 cM. Mit einer Anzahl von 154 RFLP-Loci gibt Heun *et al.* (1991) die Genomgröße mit 1.096 cM an. In der Arbeit von Ramsay *et al.* (2000) beträgt das Gerstengenom unter Einbeziehung von 299 SSR-Marker-Loci 1.173 cM. Ähnliche Größen des Genoms mit 1.153,3 cM und der Verwendung von 307 Loci (RFLP, AFLP und SSR-Marker) sind bei Richter (1998) beschrieben. Raman *et al.* (2003) markieren das Genom mittels 257 AFLP, RFLP, SNP und SSR-Marker über eine Größe von 1.280 cM. Größere Gen-Karten stellen Binder (2001) mit 1.426,7 cM vor, welche durch SSR- und AFLP-Marker beschrieben werden. Auch Becker *et al.* (1995) beschreiben eine Größe von 1.873 cM über RFLP-, AFLP- und SSR-Marker sowie durch Isoenzyme. Diese Angaben lassen vermuten, dass durch den gleichzeitigen Einsatz verschiedener Markerklassen in vielen Fällen die genetische Kartengröße ausgedehnt werden kann.

Ebenso wie die Genomgröße variieren die beschriebenen Größen einzelner Chromosomen. Hier sind Angaben von 38 cM (6H, Heun *et al.* 1991) und 51 cM (1H, Pillen 2002) bis zu 290 cM (7H, Barr *et al.* 2003) zu finden. Becker *et al.* (1995) beschreibt 2H als eines der größten Chromosomen mit 362 cM. In der vorliegenden Arbeit beträgt die durchschnittliche Chromosomengröße 135 cM. Dabei beträgt das kleinste Chromosom 79 cM (2H) und das größte Chromosom 177 cM (5H).

Bei der Erstellung der Genkarte für die Testpopulation Arena x 41923 war ein durchschnittlicher Markerabstand kleiner als 20 cM angestrebt. Sieben Bereiche der Genkarte weisen jedoch größere Markerabstände auf. Fünf Bereiche mit Abständen zwischen 32 und 39 cM existieren auf den Chromosomen 1H, 2H, 4H, 5H und 6H. Auf Chromosom 1H befindet sich eine größere Lücke von 55 cM und auf 6H von 60 cM.

Diese Abschnitte des Gerstengenoms zeigen in anderen Arbeiten ebenfalls eine geringere Markerdichte (Oregon Wolfe Barley Map (Costa et al. 2001); Linkage Map of Barley Lina x *H. spontaneum* (Ramsay et al. 2000); Barley Bin Mapping (Kleinhofs et al. 1993); Linkage Map of Rolfi x H CI9819 (Manninen et al. 2000)). In der Arbeit von Pillen (2002) weist die Karte zur Lokalisation der verwendeten SSR-Marker auf 2H, 3H, 5H, 6H und 7H fünf Lücken mit einem Abstand zwischen 40 und 90 cM auf. Dabei ist 6H das Chromosom mit dem größten Markerabstand. Dieses Chromosom weist in der vorliegenden Arbeit, neben 2H, ebenso eine geringere Anzahl polymorpher Marker auf. In Bereichen mit niedriger Polymorphierate, wie auf Chromosom 2H mit 20 %, ist es denkbar, dass beide Eltern in dieser Genregion eine hohe Anzahl gleicher Allele besitzen. Dies kann durch eine starke genetische Ähnlichkeit oder durch eine geringe Rekombinationsrate an diesen Loci bedingt sein.

Der durchschnittliche Markerabstand (cM/Marker) dieser Arbeit liegt basierend auf der Karte von Ramsay et al. (2000) je nach Chromosom zwischen 8,7 cM (4H) und 16,1 cM (5H). Bei einer Genomgröße von insgesamt 947 cM entspricht der durchschnittliche Abstand der polymorphen SSR-Marker ca. 12,6 cM. Da bis zum Ende der Genotypisierung von einigen polymorphen Markern keine genauen Locusangaben veröffentlicht worden sind, wurden diese Loci bei der QRL-Analyse nicht berücksichtigt. Es ergibt sich dadurch für die Betrachtung der analysierten SSR-Marker ein durchschnittlicher Markerabstand von 14,3 cM. Dieser Wert liegt innerhalb der von Staub et al. (1996) empfohlenen Spanne von 5-20 cM für einen idealen mittleren Markerabstand bei QTL-Analysen. Tanksley (1993) gibt die Obergrenze des Markerabstandes für eine QTL-Analyse mit 15 cM an, welche in der vorliegenden Arbeit mit 14,3 cM eingehalten wird.

Die noch bestehenden Lücken in der SSR-Markerkarte könnten mit Hilfe einer *consensus*-Karte, z.B. von Karakousis et al. (2003) und durch den zusätzlichen Einsatz anderer Markerklassen (z.B. AFLP, RFLP, SNP) neben SSR-Markern für Anschlussprojekte voraussichtlich verringert oder gar geschlossen werden.



#### 4.4 Detektion der putativen QRL

In der Literatur werden verschiedene Analyseverfahren zur Detektion von QTL beschrieben. Neben der einfaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA, *single point analysis*), werden häufig Intervallkartierungen zur Detektion von QTL eingesetzt. Bei den Analysemethoden des *composite interval mapping* (Zeng 1994), des *simple interval mapping* Haley & Knott (1992) und des *multiple interval mapping* (Kao et al. 1999) werden Nachbarschaftseffekte der Marker-Loci in die statistische Auswertung mit einbezogen. Voraussetzung hierfür ist eine dichte genetische Karte der zu untersuchenden Art. Die Analysen könnten zur einfacheren Handhabung mit PC-Programmen, wie zum Beispiel dem Programm PLAB-QTL (Utz und Melchinger 1996), welches speziell für F<sub>2</sub>-Populationen konzipiert wurde, durchgeführt werden.

Aus dem eigenen phänotypischen und genotypischen Datenmaterial wurden putative QRL mittels der Varianzanalyse ermittelt. Für die Methode einer Intervallkartierung war die Dichte der Marker-Karte an einigen Genregionen nicht ausreichend. Außerdem wurden bedingt durch die Strategie der QRL-Detektion nur an Hand der Extrema-Gruppen ausgewählte Markerregionen in der gesamten Testpopulation genotypisiert.

Die Strategie der vorliegenden Arbeit beruht auf dem Prinzip der *Bulked segregant analysis* (Michelmore et al. 1991). Mit dieser Methode konnten entsprechend der Ergebnisse der Resistenztestung der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Population Arena x 41923 (Testpopulation) zwei Extrema-Gruppen gebildet werden. Diese setzten sich aus den 15 % resistentsten und 15 % anfälligsten Pflanzen der insgesamt 636 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen zusammen. Die Verrechnung der phänotypischen Daten aus der Resistenztestung mit den genotypischen Daten erfolgte über die *single point analysis*, *combined analysis* und *Random analysis*. Die *single point analysis* betrachtet die Effekte einzelner Markerregionen unabhängig von einander. Hingegen werden in der zusätzlich verwendeten *combined analysis* die Effekte aller untersuchten Markerregionen im Zusammenhang betrachtet. Bei der *Random analysis* werden die Effekte der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen miteinbezogen.

Mit den in der *single point analysis* aus den zwei genotypisierten Extrema-Gruppen hervorgegangenen hoch signifikanten ( $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*) SSR-Marker, welche darüber hinaus eine Veränderung der Allelfrequenz zwischen den beiden Extrema-Gruppen aufwiesen (s. Tab. 3.3), wurden nachfolgend die Verifikationspopulationen Berolina, Golf und Pasadena x 41923 sowie die gesamte Testpopulation genotypisiert. Auf Grund von Monomorphie und teilweiser schlechter Auswertbarkeit (Stotterbanden) dieser SSR-Marker in den Verifikationspopulationen wurden diese nach Möglichkeit durch benachbarte Marker ersetzt (s. Tab. 3.9). Zur Absicherung

der mit diesen Markern detektierten QRL wurde mit deren flankierenden SSR-Markern die Genotypisierung in der gesamten Arena-Population ergänzt und mit einer weiteren *single point analysis* sowie der *combined analysis* und *Random analysis* hinsichtlich der putativen QRL untersucht. Da bei der Resistenz gegen Netzflecken an Gerste von einer quantitativen Resistenz ausgegangen wird (s. Kap. 1.6), wurde ebenfalls der Möglichkeit von Interaktionen zwischen den putativen QRL über eine *single point analysis* nachgegangen.

Unter der Einbeziehung der Signifikanz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von ( $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*) und der Allelfrequenzänderung in Richtung des Wildelterallels der resistenten Extrema-Gruppe an diesen hoch signifikanten Loci sind die Marker GMS021 (1H), HVM36 (2H), Bmag0606 und EBmac0708 (3H) sowie EBmac0906 und HVPDIA (4H) als putative QRL für die Resistenz gegen *P. teres* identifiziert worden (s. Tab. 3.3). Bei diesen Markern scheint durch die Darstellung einer Allelfrequenzänderung in die Richtung des Wildelterallels der resistenten Extrema-Gruppe das Ziel dieser Arbeit, die Introgression von Resistenzgenen aus der Wildgerste in Kulturgerste, erfolgt zu sein. In Genregionen auf Chromosom 4H und 6H zeigten weitere hoch signifikante SSR-Marker ebenso Allelfrequenzänderung der resistenten Extrema-Gruppe. Diese weisen jedoch eine Verschiebung in Richtung Kulturelterallel auf und deuten daher auf ein Resistenzgen aus dem Kulturelter hin. Um diese Resistenzen, welche möglicherweise aus dem Kulturelter stammen, mit zu berücksichtigen, wurden für den weiteren Verlauf der vorliegenden Arbeit die Marker EBmac0635 und EBmac0679 (4H) sowie HVM74 und Bmag0613 (6H) mit einbezogen (s. Tab. 3.3).

Die SSR-Marker HVM74 und Bmag0613 auf Chromosom 6H zeigten in der *single point analysis* sehr hohe Signifikanzen ( $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*) jedoch keine Reduktion der durchschnittlichen Befallsstärke von den homozygoten Kultur- (ca. 15 %) zu den homozygoten Wildeltergenotypen (ca. 16,5 %). Richter (1998) konnte jedoch in dieser Chromosomenregion QTL lokalisieren, so dass beide SSR-Marker weiterhin in die Analysen der vorliegenden Arbeit mit einbezogen wurden.

Die Auswertung der Daten des flankierenden Markers HVM62 führte in der *combined analysis* zu Problemen. Durch Ausfälle bei der Genotypisierung mit diesem Marker entstanden Lücken in dessen Datenreihen, welche bei der Verrechnung mit dem Statistik-Programm SAS zu Datenverlusten der übrigen Marker sowie zu teilweise veränderten Ergebnissen der Verrechnung mit und ohne HVM62 führten. Aus diesem Grunde wurden die Ergebnisse des Locus HVM62 in den *combined analysis* nicht weiter berücksichtigt.

Die detektierten QRL des untersuchten Hauptmerkmals der Befallsstärke dieser Arbeit verteilen sich auf die Chromosomen 1H bis 4H und 6H (Abb. 3.19 s.S.68). Es konnten auf

Chromosomen 1H zwei QRL (Pt BIa und Pt BIb), auf 2H ein QRL (Pt BII), auf 3H zwei QRL (Pt BIIIa und Pt BIIIb), auf 4H zwei QRL (Pt BIVa und Pt BIVb) und auf 6H ein QRL (Pt BVI) detektierten werden.

#### 4.5 Qualität der putativen QRL

Die Merkmalsausprägung wird neben der genetischen Grundlage ebenso von der Umwelt beeinflusst. So können genetisch gleiche Pflanzen zum Beispiel in Abhängigkeit von Temperatur, Lichtverhältnissen, Nährstoffversorgung oder Luftfeuchte in der Ausprägung eines Merkmals variieren. Aus diesem Grunde wurde die *in vitro* Resistenztestung der vorliegenden Arbeit unter *ceteris paribus*-Bedingungen durchgeführt, um eine umweltbedingte Beeinflussung der Merkmalsausprägung auszuschließen und somit allein die genetische Grundlage der Resistenz zu betrachten.

In Folge der Ergebnisse der Testpopulation Arena x 41923 konnten putative QRL hinsichtlich der Resistenz gegen *P. teres* auf Chromosomen den 1H, 2H, 3H, 4H und 6H sowie epistatische Effekte zwischen einigen dieser Loci detektiert werden (s. S. 68 Abb. 3.19 und S. 69 Abb. 3.20).

Auf dem **Chromosom 1H** wurden zwei QRL detektiert. QRL Pt BIa wird durch die Marker GMS021 und Bmag0213 markiert und QRL Pt BIb durch die Marker HVALAAT und Bmag0347. Den signifikanten SSR-Markern dieses Chromosoms (GMS021, HVALAAT, Bmag0347) konnten in der Einzelgenortbetrachtung keine Befallsreduktionen von durchschnittlichen homozygoten Kulturelter- zu homozygoten Wildeltergenotypen nachgewiesen werden. Der flankierende Marker Bmag0213 ist in allen Varianzanalysen nicht signifikant und weist ebenso keinen Einfluss auf den Befall einer der Genotypen auf. Hingegen zeigt die Interaktion von Bmag0213 mit Bmag0378 (Pt BIa\*Pt BII) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* sowie einer Befallsreduktion des homozygoten Wildeltergenotyps auf 1,8 % einen Bezug zur Resistenz. Die Interaktion dieser beiden QRL über die Markerkombination GMS021\*Bmag0378 weist keine homozygote Wildelterkombination auf, wodurch die hohe Signifikanz (\*\*\*) des Interaktionseffekts dieser beiden QRL nur durch die Kombination mit Bmag0213 hervorgeht.

GMS021 zeigte in allen Varianzanalysen sehr hohe Signifikanzen ( $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*). Allein in der *single point analysis* der gesamten Testpopulation wird die Aussagekraft dieses Markers auf eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,01$  \*\* gemindert. Jedoch wurde seine Bedeutung für die Resistenz unter der Betrachtung von Interaktionen wieder hergestellt. Epistasie-Effekte

zwischen GMS021 und Bmag0606 zeigten in der homozygoten Wildeltergenotypkombination einen niedrigen Befall von durchschnittlich 3,0 %.

Weitere hoch signifikante epistatische Effekte konnten in der Varianzanalyse ebenso zwischen den QRL Pt BIa und Pt BII (Bmac0213\*Bmag0378) sowie Pt BIb in Kombination mit der QRL Pt BIIIb (HVAALAT\*EBmac0708) und in Kombination mit QRL Pt BIVa (Bmag0374\*EBmac0906, Bmag0374\*EBmac0775) nachgewiesen werden. In der *single point analysis* wird der epistatische Effekt zwischen Pt BIb und Pt BIVa durch weitere signifikante Markerinteraktionen beschrieben (HVALAAT\*EBmac0906, HVALAAT\*HVPDIA, HVALAAT\*EBmac0775, Bmac0347\*HVPDIA), welche alle eine nahezu gleiche durchschnittliche Befallsstärke von 0,6 % bzw. 0,7 % aufweisen. Dies würde die Zusammenfassung von HVALAAT und Bmag0347 zu dem QRL Pt BIb sowie die Zusammenfassung von EBmac0906, HVPDIA und EBmac0775 zu dem QRL Pt BIVa bestätigen.

Die epistatischen Effekte zwischen Loci der Chromosomen 1H und 6H (GMS021\*Bmag0613, Bmac0213\*Bmag0613, HVALAAT\*Bmag0613, Bmag0347\*Bmag013) mit einem durchschnittlichen Befall der homozygoten Wildeltergenotypkombination von ca. 4,2 % und niedrigeren Signifikanzen scheinen eine untergeordnete Rolle in der Resistenz gegen *P. teres* zu spielen.

Auf **Chromosom 2H** wurde der QRL Pt BII detektiert. Dieser wird durch die SSR-Marker HVM36 und Bmag0378 beschrieben, welche nach der erstellten Markerkarte in einem Abstand von 26 cM kartieren.

In der ersten *single point analysis* der Extrema-Gruppen der Testpopulation konnte nur ein hoch signifikanter SSR-Marker, HVM36, mit einer mittleren Befallsstärke der homozygoten Wildeltergenotypklasse von 3,7 % identifiziert werden. Es konnte insgesamt nur eine Interaktion dieses Markers mit einem anderen putativen Resistenzlocus gefunden werden, welche zu einer Reduktion der Befallsstärke von 3,7 % führte. Diese Kombination HVM36\*Bmag0606 zeigte damit die gleiche mittlere Befallsstärke der homozygoten Wildeltergenotypkombination von 3,7 %, welche ebenso am Einzellocus HVM36 detektiert wurde. Jedoch konnte dieser Kombination in der *single point analysis* keinen signifikanten Effekt zur Resistenz nachgewiesen werden. Dies könnte auf Wechselwirkungen mit anderen QRL hinweisen.

Der Marker Bmag0378 erschien in den Varianzanalysen der Einzelgenortbetrachtung nur gering signifikant und markierte an dem homozygoten Wildelterlocus einen hohen durchschnittlichen Befall von knapp 20 %. Allerdings konnte in der homozygoten

Wildeltermkombination der schon beschriebenen Interaktion mit dem QRL Pt BIIa (Bmag0213\*Bmag0378) eine mittlere Befallsstärke von 1,8 % identifiziert werden.

Die Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* in allen Varianzanalysen und die niedrige Befallsstärke der homozygoten Wildeltermgenotypen an dem Locus HVM36 lassen vermuten, dass der Genort der Resistenzeigenschaft dieses QRL in der Nähe dieses Markers kartiert.

Die QRL Pt BIIIa (Bmag0606) und Pt BIIIb (HVM62, EBmac0708 und Bmac0029) beschreiben Genregionen auf **Chromosom 3H**, welche nach den vorliegenden Ergebnissen Resistenzeigenschaften der Pflanzen gegen *P. teres* hervorrufen.

Die SSR-Marker Bmag0606 und EBmac0708 konnten an Hand der ersten *single point analysis* der Extrema-Gruppen als hoch signifikant ( $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*) eingestuft werden. Bei dieser Betrachtung führte allerdings nur der Genlocus Bmag0606 bei gleichzeitiger Allelfrequenzänderung zu einer durchschnittlichen Befallsreduktion der homozygoten Kulturelter- zu den homozygoten Wildeltermgenotypen von 16,2 % auf 8,2 %. Zusammen mit der Verrechnung der flankierenden Marker konnten auf diesem Chromosom zwei QRL (Pt BIIIa, Pt BIIIb) und ein möglicher dritter QRL (Pt BIII?) detektiert werden. Der QRL Pt BIII? wird durch den flankierenden SSR-Marker Bmag0841 lokalisiert, welcher in den Varianzanalysen nur eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,05$  \* aufwies. Mit diesem Marker konnten Interaktionen mit QRL Pt BIVa und mit QRL Pt BVI detektiert werden, welche ebenso Interaktionen mit dem Resistenzloci Pt BIIIa (Bmag0606) zeigten. Jedoch markierte Bmag0841 höhere mittlere Befallswerte als Bmag0606 in Kombination mit denselben QRL (s. Tab. 3.8, S. 58). Dies deutet darauf hin, dass der Locus des Resistenzgenes zwischen diesen beiden Markern vermutet werden kann. Diese Vermutung wird durch die befallsreduzierende Interaktion dieser beiden Loci untereinander (Bmag0606\*Bmag0841) auf einen mittleren Befall von 2,4 % zusätzlich bestätigt. Infolge der niedrigeren Befallswerte und der hohen Signifikanzen in den Varianzanalysen des Markers Bmag0606 ist es wahrscheinlich, dass der Resistenzlocus dieses QRL näher an Bmag0606 als an Bmag0841 kartiert.

Den Markern des QRL Pt BIIIb (HVM62, EBmac0708 und Bmac0029) konnte in den Varianzanalysen mit dem Datenmaterial der gesamten Testpopulation keine Signifikanz nachgewiesen werden (s. Tab. 3.7, S. 56). Ebenso wenig war eine Befallsminderung an deren homozygoten Wildeltermgenotypen erkennbar. Jedoch werden mit dem QRL Pt BIIIb zwei befallsreduzierende Interaktionen mit QRL Pt BIb beschrieben (EBmac0708\*HVALAAT: 4,0 % und EBmac0708\*Bmag0347: 5,1 %), welche mit QRL Pt BIIIa (Bmag0606) einen hohen

Befallsmittelwert des homozygoten Wildeltergenotyp von 15,5 % (HVALAAT) oder 28,0 % (Bmag0347) aufwiesen. Dies lässt auf zwei unabhängige QRL auf 3H schließen. Denkbar wäre an dieser Stelle jedoch ebenso ein QRL zwischen beiden Markern. Dieser zeigte je nach Zusammensetzung der verrechneten Pflanzen bei dem einen oder anderen Marker-Loci eine deutlichere Signifikanz, da in einer Gruppe mehr Pflanzen mit dem QRL enthalten sein könnten als in der anderen Gruppe. Diese Annahme würde durch die in der *single point analysis* hoch signifikante Interaktion (\*\*\*) der Marker Bmag0606 (Pt BIIIa) und HVM62 (Pt BIIIb) auf einen homozygoten Wildelterbefall von 0,3 % bestärkt. Eine ähnliche Interaktion konnte zwischen Bmag0606 (Pt BIIIa) und dem oberhalb liegenden Marker Bmag0841 (Pt BIII?) mit einem durchschnittlichen homozygoten Wildelterbefall von 2,4 % festgestellt werden. Bei diesen beiden Interaktionen liegen die Marker 29 cM bzw. 26 cM auseinander. Die interagierenden Marker Bmag0841 (Pt BIII?) und Bmac0029 (Pt BIIIb) mit einem Mittelwertsbefall des homozygoten Wildeltergenotyps von 2,4 % liegen hingegen 67 cM von einander entfernt. Diese Größe des Abstandes würde für zwei unterschiedliche QRL sprechen. Die Eigenständigkeit des QRL Pt BIII? wird durch die nicht signifikante Interaktion mit dem QRL Pt BIVa der *single point analysis* in Frage gestellt, da im Gegensatz zu diesem den Interaktionen der QRL Pt BIIIa und Pt BIIIb mit dem QRL Pt BIVa hohe Signifikanzen mit  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) nachgewiesen werden konnten.

Für genauere Aussagen über die Lage dieser detektierten Resistenzgene auf Chromosom 3H, welche mit den QRL Pt BIII?, Pt BIIIa und Pt BIIIb beschrieben werden, müssten in diesen Genregionen eine Feinkartierung durchgeführt und die genotypisierten Daten über eine Intervallkartierung verrechnet werden.

Auf **Chromosom 4H** konnten in dieser Arbeit zwei QRL lokalisiert werden. Diese beiden QRL grenzen sich durch die Richtung der Allelfrequenzänderung zwischen den beiden Extrema-Gruppen der *Bulked segregant analysis* ab. Am QRL Pt BIVa konnte in der resistenten Extrema-Gruppe ein erhöhter Allelanteil des Wildelters und am QRL Pt BIVb ein erhöhter Allelanteil des Kulturelter festgestellt werden (s. Tab. 3.3). QRL Pt BIVa wird durch die Marker EBmac0906, HVPDIA und EBmac0775 und QRL Pt BIVb durch die Marker EBmac0635 und EBmac0679 markiert. In den Varianzanalysen wurden diesen SSR-Markern hohe Signifikanzen mit  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) nachgewiesen.

Für den Marker HVPDIA lag zu Beginn der Genotypisierung nur die Chromosomzugehörigkeit vor. Auf Grund der großen Übereinstimmung der Ergebnisse mit den Marker EBmac0906 und EBmac0775 in Bezug auf die Befallsmittelwerte der Genotypen und

der Signifikanzen an den Einzelloci wie in den Kombinationen (vgl. Tab. 4.1) wurde HVPDIA in der direkten Umgebung dieser Marker vermutet. Diese Annahme konnte nach Abschluss der Laborarbeiten durch eine Intervallkartierung dieser Genregion mit dem Datenmaterial aus der gesamten Testpopulation über das Programm *Map Manager QTX* (Meer, J. et al., Roswell Park Cancer Institut, USA, 2002) für diesen Locus bestätigt werden.

**Tab. 4.1:** Datenzusammenstellung zur Lokalisation von HVPDIA durch Vergleich mit EBmac0906 und EBmac0775

Marker-Kombination						Genotyp		Signifikanz der Kombination
SSR-Marker 1	Chromosom	Position	SSR-Marker 2	Chromosom	Position	Homoygot Kultureller	Homoygot Wildelter	<i>single point analysis</i>
EBmac0906	4H	37				15,9	7,9	***
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9				16,0	7,9	***
EBmac0775	4H	42				15,9	8,3	***
HVALAAT	1H	57	EBmac0906	4H	37	15,0	0,6	***
HVALAAT	1H	57	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	14,9	0,6	**
HVALAAT	1H	57	EBmac0775	4H	42	15,2	0,7	**
Bmag0347	1H	70	EBmac0906	4H	37	14,9	0,6	***
Bmag0347	1H	70	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	14,9	0,6	***
Bmag0347	1H	70	EBmac0775	4H	42	15,2	0,7	***
Bmag0606	3H	125	EBmac0906	4H	37	16,3	1,8	**
Bmag0606	3H	125	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	16,3	1,8	**
EBmac0708	3H	156	EBmac0906	4H	37	15,6	0,7	**
EBmac0708	3H	156	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	15,5	0,7	**
EBmac0708	3H	156	EBmac0775	4H	42	15,7	0,7	***
Bmag0841	3H	99	EBmac0906	4H	37	15,9	2,4	n.s.
Bmag0841	3H	99	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	15,9	2,4	n.s.
EBmac0775	4H	42	EBmac0906	4H	37	16,1	4,3	n.s.
Bmac0775	4H	42	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	16,0	4,3	n.s.
EBmac0635	4H	82	EBmac0906	4H	37	15,2	2,4	n.s.
EBmac0635	4H	82	<b>HVPDIA</b>	<b>4H</b>	37,9	15,3	2,4	***

In der Einzelgenortbetrachtung zeigten die Marker des QRL Pt BIVa eine Befallsreduktion von dem homozygoten Kultur- zum homozygoten Wildeltergenotyp von ca. 16 % auf ca. 8 %. Hingegen wiesen die Marker des QRL Pt BIVb eine Befallssteigerung von homozygoten Kultur- zum homozygoten Wildeltergenotyp von ca. 15,2 % auf ca. 24 % auf. Setzt man dies in Bezug zur Allelfrequenzänderung an diesem QRL, so scheint bei der Einzelgenortbetrachtung das Wildelterallel einen negativen Effekt auf die Resistenz zu haben. Im Gegensatz dazu wirkt sich

an den einzelnen Loci des QRL Pt BIVa und HVM36 und Bmag0606 ein Wildelterallel positiv auf die Resistenzeigenschaft der Pflanze aus, wodurch der Befallsmittelwert von dem homozygoten Kultur- zum homozygoten Wildeltergenotypen um 50-77 % gesenkt werden kann (s. Tab. 3.5).

Wie auf Chromosom 3H konnten zwischen den zwei QRL des Chromosoms 4H Interaktionen mit Befallsreduktionen festgestellt werden. Die Interaktionen von Markern desselben QRL (Pt BIVa) EBmac0906\*EBmac0775 und HVPDIA\*EBmac0775 stellten sich in den Varianzanalysen als nicht signifikant dar. Jedoch zeigten diese eine weitere Reduktion am homozygoten Wildeltergenotyp auf eine durchschnittliche Befallsstärke von 4,3 %. Dies führt zu der Vermutung, dass das an diesem QRL vorhandene Resistenzgen noch durch keinen der drei Marker direkt beschrieben wird, sondern zwischen den Markern HVPDIA und EBmac0775 liegen könnte.

Des Weiteren konnten Interaktionen von Markern zwischen den beiden QRL des Chromosoms 4H detektiert werden. Die Interaktionen EBmac0906\*EBmac0679 und HVPDIA\*EBmac0679 zeigten in der *single point analysis* Irrtumswahrscheinlichkeiten von  $\alpha \leq 0,01$  \*\* sowie  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* mit gleichzeitiger Reduktion der Befallsstärke am homozygoten Wildeltergenotyp von 2,4 %. Diese Ergebnisse deuten ebenfalls auf zwei unterschiedliche QRL hin, wie die Unterschiede in dem Allelanteil des Wildelters in der resistenten Extrema-Gruppe zwischen den beiden QRL.

Interaktionen dieser beiden QRL von 4H mit Loci anderer Chromosomen zeigten gegensätzliche Ergebnisse (vgl. Tab. 6.2). Die Interaktionen von QRL Pt BIVa führten mit Markern der QRL Pt BIb und Pt BIIIb zu hoch signifikanten (\*\*\*) Reduktionen der mittleren Befallsstärke des homozygoten Wildeltergenotyp auf 0,6-0,7 % (s. Tab. 3.8). Mit diesen sehr niedrigen Befallsstärken kennzeichnen die neun Interaktionen mit gleichzeitigen Signifikanzen von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* die effektivsten Genorte der Resistenz gegen *P. teres* in dieser Kreuzung. Weiterhin kann durch den erhöhten Allelanteil des Wildelters in der resistenten Extrema-Gruppe dieser Loci angenommen werden, dass die Resistenzgene der QRL Pt BIb, Pt BIIIb und Pt BIVa für eine erfolgreiche Introgression von Resistenzgenen aus dem Wildelter 41923 in den Kulturelter Arena sprechen.

Die beschriebenen Allelkombinationen treten in vier BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen der Testpopulation auf, welche alle von einer BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>-Pflanze sowie von einer BC<sub>2</sub>F<sub>1</sub>-Pflanze abstammen (s. Tab. 4.2). Die BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanze 63 enthält zwei der Interaktionen Pt BIb\*Pt BIVa und vier der Interaktionen Pt BIIIb\*Pt BIVa. Die BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanze 55 war in der Resistenztestung über die zwei Blattalter und den jeweils drei Boniturterminen befallsfrei. Ausschlaggebend für diese Resistenz scheint



demnach der epistatische Effekt zwischen Allelen der QRL Pt BIb und Pt BIVa zu sein. Das Verfahren der Pyramidisierung von Resistenzgenen könnte für die Nutzung dieser polygenen Resistenzquelle empfohlen werden.

**Tab. 4.2:** BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen der Testpopulation mit nachgewiesenen befallsreduzierenden Interaktionen

BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Pflanze / Abstammung BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> : BC <sub>2</sub> F <sub>1</sub> : BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub>	Durchschnittliche Befallsstärke über 2 Blattalter und 3 Boniturterminen	nachweisbare Interaktionen in der BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Pflanze	QRL*QRL
<b>45</b> <b>2:2:1</b>	0,5 %	HVALAAT*EBmac0906	Pt BIb*Pt BIVa
		HVALAAT*HVPDIA	Pt BIb*Pt BIVa
		Bmag0347*EBmac0906	Pt BIb*Pt BIVa
		Bmag0347*HVPDIA	Pt BIb*Pt BIVa
<b>54</b> <b>2:2:10</b>	0,7 %	HVALAAT*EBmac0775	Pt BIb*Pt BIVa
		Bmag0347*EBmac0775	Pt BIb*Pt BIVa
		EBmac0708*EBmac0775	Pt BIIIb*Pt BIVa
<b>55</b> <b>2:2:11</b>	0,0 %	Bmag0347*EBmac0906	Pt BIb*Pt BIVa
		Bmag0347*HVPDIA	Pt BIb*Pt BIVa
<b>63</b> <b>2:2:19</b>	0,7 %	HVALAAT*EBmac0906	Pt BIb*Pt BIVa
		HVALAAT*HVPDIA	Pt BIb*Pt BIVa
		Bmag0347*EBmac0906	Pt BIb*Pt BIVa
		Bmag0347*HVPDIA	Pt BIb*Pt BIVa
		EBmac0708*EBmac0906	Pt BIIIb*Pt BIVa
		EBmac0708*HVPDIA	Pt BIIIb*Pt BIVa

Im Gegensatz zu den epistatischen Effekten von QRL Pt BIVa führten die Interaktionen von QRL Pt BIVb in Kombination mit anderen Markern zu prägnanten Steigerungen der mittleren Befallsstärke des homozygoten Wildeltergenotyps von 13,9 bis 41,0 % auf durchschnittlich 27 % (s. Tab. 6.2). Die einzigen zwei Ausnahmen konnten zwischen den Markern Bmag0606 und EBmac0679 sowie Bmag0606 und EBmac0635 festgestellt werden. EBmac0635 und EBmac0679 zeigten zwar als signifikante Loci in der *single point analysis* beide eine Steigerung des homozygoten Wildeltergenotypbefalls auf ca. 24 %, aber in Kombination mit Bmag0606 konnte die Reduktion auf 2,4 % bzw. 2,2 % der homozygoten Wildeltergenotypen registriert werden. Mit diesen Befallsstärken weisen diese Interaktionen jedoch geringere befallsenkende Effekte auf als die Interaktionen des QRL Pt BIVa erklären.

Die statistischen Analysen deuten auf eine QRL auf **Chromosom 6H** hin. Die zwei SSR-Marker HVM74 und Bamg0613 dieses QRL Pt BVI zeigten ausgeprägte Allelfrequenzänderungen zwischen den beiden Extrema-Gruppen der *Bulked segregant analysis*,

welche zu einer Erhöhung des Allelanteil des Kulturelter in der resistenten Extrema-Gruppe führte (s. Tab. 3.3).

In der Betrachtung der Einzelgenorte konnte den beiden Markern ein starker Einfluss auf die Resistenz gegen Netzflecken an Gerste nachgewiesen werden. Dieser war gekennzeichnet durch eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\*. Es konnten keine Unterschiede zwischen den Befallsstärken der beiden homozygoten Elterngenotypen (Kultureltergenotyp ca. 15 %, Wildeltergenotyp ca. 16 %, s. Tab. 3.5) festgestellt werden. Zu diesen Werten konnten jedoch signifikante Unterschiede der heterozygoten Genotypen (HVM74 mit 23,2 % und Bmag0613 mit 20,6 %) nachgewiesen werden.

Signifikante Interaktionen dieses QRL mit den anderen QRL zeigten Befallsstärken von 4,1 - 4,4 %. Diese epistatischen Effekte beruhen auf Markerkombinationen zwischen dem QRL Pt BVI mit den QRL Pt BIa, QRL Pt BIb und Pt BIII?. Die Interaktionen von QRL Pt BVI mit QRL Pt BIIIa oder Pt BIIIb wiesen keine homozygoten Wildeltergenotypkombinationen auf und können daher hinsichtlich des Einflusses auf die Resistenzeigenschaft der Pflanzen nicht ausreichend bewertet werden.

Die befallsreduzierende signifikante Interaktion HVM74\*Bmag0613 aus Markern desselben QRL auf 6H zeigte eine Befallsstärke von knapp 10 % des homozygoten Wildeltergenotyps (s. Tab. 6.2). Dieses entspricht einer Senkung des Befalls vom homozygoten Kulturelter- zu homozygoten Wildeltergenotyp von ca. 35 %. Um zu klären, ob diese beiden Loci mit einem Abstand von 46 cM in der Markerkarte ein oder zwei QRL darstellen, müsste eine Genotypisierung mit flankierenden Markern durchgeführt werden. In der vorliegenden Arbeit wurde jedoch darauf verzichtet, da an diesen Loci prägnante Allelfrequenzverschiebungen in die Richtung des Kulturelterallels vorlagen. Dies führt zur Annahme, dass die QRL auf 6H aus dem Kulturelter stammen.

Bei der unter Chromosom 4H beschriebenen Interaktion zwischen Bmag0613 und EBmac0635 mit einer hohen mittleren Befallsstärke des homozygoten Wildeltergenotyps von 27,6 % könnte es sich um negative epistatische Effekte der beiden beteiligten Loci handeln. Ebenso denkbar wäre ein negativer Effekt eines unbekanntes dritten Locus, welcher an einem nicht markierten Genort liegt. Unter Einbeziehung der Ergebnisse der Interaktionen des QRL Pt BIVb (s.o.) erscheinen negative epistatische Effekte des SSR-Markers EBmac0635 auf die Resistenzeigenschaft der Pflanzen als wahrscheinlicher.

Die *Random analysis* als Alternativ-Methode zur Betrachtung von Wechselwirkung unter Einbeziehung der Varianz der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen wies über das gesamte Genom nur wenigen Marker-Loci eine Signifikanz zu. Mit niedrigen Signifikanzen (\*, \*\*) wurden die Marker-Loci

Bmag0347 (QRL PT BIb), HVOLE (Nähe QRL Pt BIVa), EBmac0635 (QRL PT BIVb), EBmac0679 (QRL PT BIVb) und HVM74 (QRL PT BVI) beschrieben. Diese zeigten jedoch im homozygoten Wildeltergenotyp oder im heterozygoten Genotyp steigende Befallswerte auf ca. 19 bis 24 %. Daher konnten diese Genorte trotz ihrer Signifikanz nicht mit der Resistenzeigenschaft zur Befallsreduktion in Bezug gebracht werden. Mit einer prägnanten Aussagekraft für eine Resistenzeigenschaft konnte nur ein Marker der *single point analysis* (Bmag0606, QRL PT BIIIa, F-Wert 30,17) über eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*) bestätigt werden. Die Methode der *Random analysis* kennzeichnet demzufolge nur Genorte mit starkem Bezug zum untersuchten Merkmal. Marker, welchen in der *single point analysis* ebenfalls hohe Signifikanzen (\*\*\*) aber F-Werte kleiner 14 aufwiesen, bleiben bei dieser Methode jedoch unberücksichtigt. Demnach können mit dieser Methode die Haupteffekte eines zu untersuchenden Merkmals festgestellt werden. Dagegen kommt den Nebeneffekten dabei eine untergeordnete Rolle zuteil. Insgesamt führt dies jedoch zu einer Verringerung der Anzahl falsch-positiver Effekte.

Die QRL-Analyse des gesamten Genoms zeigt, dass die QRL Pt BIa, Pt BIb, Pt BIIIa, Pt BIIIb und Pt BIVa sowie die Interaktionen der QRL von 1H\*4H und 3H\*4H den größten Einfluss auf die Resistenzeigenschaft der Pflanzen haben. Durch eine genauere Lokalisation der Resistenzgene dieser QRL könnten die Effekte der Befallsreduktion möglicherweise noch gesteigert werden, da die beschriebenen QRL vermutlich nicht exakt den Resistenzgenen entsprechen und so der Effekt dieser Resistenzgene möglicherweise nicht vollständig dargestellt werden kann.

Alle diese QRL zeigten Allelfrequenzänderungen zwischen den beiden Extrema-Gruppen der *Bulked segregant analysis* (Michelmore et al. 1991), welche mit einer Erhöhung des Allelanteil des Wildelters in der resistenten zur anfälligen Extrema-Gruppe verknüpft waren. Damit charakterisieren diese Wildelterallele den entscheidenden Faktor für die Resistenz gegen *P. teres*. Das Ziel der vorliegenden Arbeit, die Nutzung von Wildgerstenallelen zur Verbesserung der Resistenzeigenschaft von Kulturgerste, ist damit erfolgreich umgesetzt worden.

Zu bedenken ist allerdings, dass die verwendeten SSR-Marker in Anlehnung an die Genkarte von Ramsay et al. (2000) kartiert wurden. Daher könnten die Abstände zwischen den Markern und die Lage der einzelnen Marker zueinander nicht mit realen Parametern in der Testpopulation übereinstimmen. Für eine genaue Lokalisation jedes Markers müssten in der

eigenen Population alle Marker genotypisiert werden, um eine Kartierung dieser vornehmen zu können. Eine sehr genaue Lokalisierung der QRL ist für eine Introgression basierend auf einer markergestützten Rückkreuzung nach Kearsey und Farquhar (1998) nicht notwendig, um so bedeutender dagegen ist die Kenntnis über den QTL mit dem größten Effekt.

Die Auswertung der durchschnittlichen Befallswerte (s. Tab. 3.5 und Tab. 3.7) lässt die Schlussfolgerung zu, dass mindestens zwei Gene integriert werden müssen, um eine drastische Reduktion des Befalls zu erreichen. Eine gleich gute oder sogar gesteigerte Wirkung auf die Befallsreduktion ist ebenso bei einer Beteiligung von drei oder mehr Genen denkbar. Allerdings konnte dies nicht nachgewiesen werden, da trotz des großen Umfangs der Testpopulation für solch eine Beurteilung nicht genügend Dreier-Kombinationen an homozygoten Wildeltergenotypen beobachtet werden konnten.

Ob alle Resistenzgene aus dem Wildelter in der Rückkreuzungspopulation in der QRL-Analyse betrachtet werden konnten, kann nicht gesagt werden, da die genetische Varianz mit zunehmender Rückkreuzung deutlich abnimmt (Schacht 1998). Für eine genaue Betrachtung der genetischen Drift in Rückkreuzungsstufen müssten Pflanzen der  $BC_0$  und  $BC_1$ -Generationen der untersuchten Populationen genotypisiert werden. Es wird jedoch davon ausgegangen, dass die genetische Drift in der bearbeiteten Testpopulation von untergeordneter Bedeutung ist, da die  $BC_2F_2$ -Population auf einen genetischen Hintergrund von 16  $F_1$ -Pflanzen beruht. Dieser liegt über dem von Cox (1984a und 1984b) empfohlenen Umfang von 12  $BC_1$ -Pflanzen für genetische Untersuchungen in Rückkreuzungspopulationen (s. Kap. 4.1). Des Weiteren umfasst die bearbeitete Testpopulation einen sehr großen Stichprobenumfang von 636 Pflanzen. Die Zahl vieler in der Literatur beschriebener Populationsumfänge liegt nur bei 180-300 Pflanzen (s. Kap. 1.6). Bei den Verifikationspopulationen dagegen könnte es durch den jeweils kleinen Populationsumfang zu einem Verlust an wertvollen Allelen hinsichtlich der Resistenz gegen Netzflecken gekommen sein, so dass nur einige der putativen QRL in diesen verifiziert werden konnten.

#### 4.6 Verifikation der putativen QRL

Als Verifikationspopulationen wurden zwei BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Populationen (Berolina x 41923 und Golf x 41923) sowie eine F<sub>2</sub>-Population (Pasadena x 41923) verwendet.

In einer BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Kreuzung beträgt die theoretische Allelfrequenz des Kulturelterallels p zu dem Wildelterminal q durch zwei Rückkreuzungen mit dem Kulturelter 87,5 % zu 12,5 %. In einer F<sub>2</sub>-Kreuzung ergibt sich aufgrund der einmaligen Kreuzung der Eltern mit anschließender Selbstung eine theoretische Allelfrequenzen von 50 % zu 50 %. Der niedrigere Anteil an Wildelterminalen in BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Kreuzungen führt dementsprechend zu kleineren Fragmenten von introgressierten Wildallelen und damit zu einer möglichen gezielteren Detektion von QRL. Aus zeittechnischen Gründen konnte für die vorliegende Arbeit nur eine F<sub>2</sub>-Population hergestellt werden, um nach Möglichkeit aktuelles Gerstenmaterial über die Sorte Pasadena mit einbeziehen zu können.

Mit den hoch signifikanten Markern aus der *single point analysis* der Testpopulation konnten einige der putativen QRL in den drei Verifikationspopulationen bestätigt werden. Der QRL auf Chromosom 6H wurde in den Analysen zur Verifikation nicht berücksichtigt. Wie im Text vorher schon beschrieben, konnten an diesem QRL die positiven Effekte bezüglich der Resistenzeigenschaft der Pflanzen auf Allele des Kulturelter zurückgeführt werden. Jedoch diente die vorliegende Arbeit dem Zweck der Introgression von Resistenzgenen aus einer Wildform der Gerste zur Verbesserung der Resistenzeigenschaft.

In der **Berolina-Population** konnten trotz der geringen Befallsstärke der BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen ein Effekt der QRL Pt BIa, Pt BII, Pt BIIIa, Pt BIIIb und Pt BIVa auf die Befallsreduktion von Netzflecken vom homozygoten Kulturelter- zum homozygoten Wildelterminalgenotyp an diesen Loci nachgewiesen werden. An zwei dieser Loci lagen die Befallsstärken des homozygoten Wildelterminalgenotyps sogar um 88 % (Bmag0606, QRL Pt BIIIa) bzw. 80 % (EBmac0906, QRL Pt BIVa) niedriger als am homozygoten Kulturelterminalgenotyp. Eine Signifikanz konnte jedoch nur dem Locus EBmac0906, mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* sowohl in der *single point analysis* als auch in der *combined analysis*, nachgewiesen werden. Bei den drei beobachteten Interaktionen HVM36\*Bmag0606, HVM36\*EBmac0708 und EBmac0906\*EBmac0708 dieser Population konnte trotz niedriger Befallswerte der homozygoten Wildelterminalgenotypen von 0,4 %, 1,5 % und 0,4 % der Bezug zur Resistenzeigenschaft der Pflanzen statistisch nicht bestätigt werden.

Die Ergebnisse der **Golf-Population** verifizieren in der *single point analysis* den QRL Pt BIa (Bmag0213) mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* sowie die QRL Pt BIIIb (HVM62) und Pt BIVa (EBmac0775) mit je einer Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha \leq 0,01$  \*\*. In der *combined analysis* konnte der Bezug von den Markern HVM62 und EBmac0775 zur Resistenz über das Signifikanzniveau nicht festgestellt werden. Hingegen zeigte der vorher nicht signifikante Marker HVM36 in der *combined analysis* eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,01$  \*\*. Dieser Wechsel der Signifikanz zwischen den beiden Analysemethoden wurde vermutlich auf Grund von Korrelationen zu nicht beobachteten Datensätzen hervorgerufen.

Die starke Beziehung zur Resistenzeigenschaft des Loci Bmag0213 begründet sich nicht auf eine Befallssenkung. Das Verhältnis zwischen dem hohen Befallswert des homozygoten Wildeltergenotyps mit 12,7 % und dem niedrigem Befallswert des homozygoten Kultureltergenotyps von 5,0 % an diesem Locus zeigte sich nur in der Golf-Population. In den anderen untersuchten Populationen waren zwischen den homozygoten Genotypen nur geringe Befallsunterschiede von 1-2 % zu erkennen. Der prägnante Unterschied an dem Locus des Markers Bmac0213 in der Golf-Population könnte aufgrund des hohen Befallswertes des homozygoten Wildeltergenotyps auf einen negativen Effekt dieses Locus zur Resistenz gegen Netzflecken an Gerste schließen lassen. Genauso denkbar wäre jedoch an diesem Locus mit einem Befallswert von 5,0 % des homozygoten Kultureltergenotyps ein Resistenzgen, welches aus dem Kulturelter Golf stammt.

Für alle fünf in dieser Population betrachteten Loci wurde ein mittlerer Befallswert der homozygoten Kultureltergenotypen von ca. 6 % bestimmt. Die niedrigen Befallsstärken der homozygoten Wildeltergenotypen an dem Loci Bmag0606 auf 0,2 % und an dem Loci EBmac0775 auf 2,5 % verifizieren die entsprechenden QRL Pt BIIIa und Pt BIVa aus der Testpopulation. Dennoch zeigten diese Marker keine Signifikanz in der *combined analysis*. Die epistatischen Effekte der Testpopulation konnten mit den Ergebnissen der Golf-Population nicht verifiziert werden, da in dieser Population keine Interaktionen zwischen zwei Loci mit homozygoten Wildeltergenotypen beobachtet werden konnten.

Die Auswertung der **Pasadena-Population** konnte die Effekte von Resistenzgenen gegen *P. teres* auf den Chromosom 3H und 4H verifiziert werden. In der *single point analysis* zeigten die Marker Bmag0606, HVM62 und HVPDIA einen unterschiedlich starken signifikanten Einfluss auf die untersuchte Resistenz. In der *combined analysis* wechselt die Stärke der Effekte zwischen HVM62 und Bmag0606, so dass Bmag0606 in dieser Population eine Irrtumswahrscheinlichkeit  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* aufwies. Zudem kennzeichnete Bmag0606 in dieser

Population einen Genort mit einer starken Befallsreduktion vom homozygoten Kultureltergenotyp zum homozygoten Wildeltermgenotyp um ca. 60 %. Dieser markante QRL Pt BIIIa aus der Testpopulation konnte damit in seiner Bedeutung für die Resistenz verifiziert werden. Zugleich bestätigte sich in dieser Population der befallsreduzierende Effekt von QRL Pt BIIIa in Interaktionen mit anderen Loci. Die durchschnittliche Befallsstärke des homozygoten Kultureltermgenotyps lag bei allen bekannten epistatischen Effekten der Pasadena-Population zwischen 20 % und 27 %. Ebenso wiesen die homozygoten Wildeltermgenotypen der Interaktionen Bmac0213\*HVPDIA (Pt BIa\*Pt BIVa) und HVM62\*HVPDIA (Pt BIIIb\*Pt BIVa) gesteigerte mittlere Befallswerte von 28,0 % bzw. 23,2 % auf. Hingegen zeigten die Interaktionen mit Bmag0606 (Pt BIIIa) eine Reduktion der Befallsstärke zum homozygoten Wildeltermgenotyp um 60 % bis 98 %. Die Interaktion Bmag0606\*HVPDIA (Pt BIIIa\*Pt BIVa) aus der Testpopulation konnte damit in der Pasadena-Population mit einem signifikanten mittleren Befallswert des homozygoten Wildeltermgenotyps von 0,8 % verifiziert werden.

Die Qualität des QRL Pt BII der Testpopulation konnte nicht verifiziert werden, da für diesen QRL in der Pasadena-Population kein polymorpher Marker gefunden werden konnte.

Insgesamt konnten mit den Ergebnissen der drei Verifikationspopulationen die positiven Effekte auf die Resistenzeigenschaft der prägnanten QRL Pt BIIIa, Pt BIIIb und Pt BIVa aus der Testpopulation bestätigt werden. Ebenso wie in der Testpopulation fällt diesen QRL in den Verifikationspopulationen eine besondere Bedeutung bezüglich von befallssenkenden Interaktionen mit anderen QRL zu.

Diese Ergebnisse zeigen jedoch ebenfalls die Schwierigkeiten der QRL-Detektion in Populationen mit kleinem Stichprobenumfang. Bei der niedrigen durchschnittlichen Anzahl von 160 Pflanzen je Verifikationspopulation traten in der Berolina-Population am Locus Bmag0213 und in der Golf-Population an den Loci HVM36 und HVM62 keine homozygoten Wildeltermgenotypen auf. Zudem konnten nur maximal 50 % der möglichen epistatischen Effekte mit homozygoten Wildeltermgenotypen nachgewiesen werden, wobei die Bedeutung der Interaktionen durch deren geringe Häufigkeit innerhalb der Verifikationspopulationen nicht signifikant bestätigt werden konnte. Aber auch in der Testpopulation Arena x 41923 konnten bei der Betrachtung der epistatischen Effekte zweier Resistenzregionen nur 60 % aller theoretisch möglichen Interaktionen mit homozygoten Wildeltermgenotypkombinationen dargestellt werden. So scheint auch die Größe von 636 Pflanzen für die exakte Beurteilung epistatischer Effekte innerhalb einer Population nicht ausreichend zu sein.

Die Monomorphie einiger putativen SSR-Marker der Testpopulation Arena x 41923 in den Kreuzungen Berolina, Golf und Pasadena x 41923 beschreibt deren verschiedene Abstammung (s. Kap. 2.1) und damit deren genetische Unterschiede zueinander. Die verifizierten Ergebnisse lassen daher den Schluss zu, dass eine Introgression von Resistenzgenen aus Wildgerstenformen in Kulturgersten unabhängig vom genetischen Hintergrund der Kulturgerste ist.

#### 4.7 Einsatz der *Bulked segregant analysis*

Den Ergebnissen der vorliegenden Arbeit zufolge hat sich die Strategie der *Bulked segregant analysis* mit dem großen Umfang der Testpopulation zur QRL-Detektion eines quantitativen Merkmals bewährt.

Entwickelt wurde die Methode der *Bulked segregant analysis* von Michelmore et al. (1991) an Hand einer Untersuchung zur Markerdetektion für die Zielregion eines Resistenzgenes. Ruth et al. (2003), Brotman et al. (2005) und Noguera et al. (2005) verwenden diese Methode ebenfalls erfolgreich zur Detektion von Marker für ein Zielgen. Zugleich berichten beispielsweise Zhang und Stommel (2000), Blank (2004) und Asnaghi et al. (2004) von Problemen bei der molekularbiologischen Untersuchung der Pools aus der *Bulked segregant analysis*. Diese Pools werden aus der DNA mehrerer Individuen zusammengestellt und führen häufig in den Analysen zu falsch-positiven Markerkandidaten. Dies erfordert eine teilweise Nachtestung der Einzelindividuen der Pools (Blank 2004). Um die Entstehung falsch-positiver Markerkandidaten zu unterbinden, wurden in der vorliegenden Arbeit die Pflanzen der beiden Extrema-Gruppen als Einzelpflanzen untersucht.

Neben dem Anwendungsbereich der Markerdetektion für eine einzelne gezielte Genregion halten Michelmore et al. (1991) die Methode der *Bulked segregant analysis* ebenso für die Identifikation von Markern in der QTL-Analyse geeignet. Bei der Betrachtung eines qualitativen Merkmals entspricht die phänotypische Einteilung in die beiden Extrema-Gruppen (bulks) der genotypischen Einteilung, der Expression des untersuchten Allels. Hingegen kann solch eine Gruppenbildung bei quantitativen Merkmalen zur Fehleinschätzung von möglichen Wechselwirkungen zwischen Genen oder Epistasien führen. In der vorliegenden Arbeit kann dies an einem Beispiel des Markers EBmac0708 beschrieben werden. Diesem Marker-Loci konnte in der ersten *single point analysis* der beiden Extrema-Gruppen ein starker Bezug zur Resistenz über eine Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* nachgewiesen werden, welcher dagegen in der gesamten Population nicht mehr nachweisbar war. Der vorherige starke Bezug zur Resistenz konnte indes in der Betrachtung epistatischer Effekte wieder hergestellt werden. Hier zeigte dieser Marker in der Interaktion mit den Markern des QRL Pt BIVa hoch signifikante



Befallsreduktionen auf 0,7 %. Die Befallswerte der homozygoten Genotypen der einzelnen Marker-Loci wiesen dagegen ca. 17 % (EBmac0708) bzw. ca. 8 % (Marker des QRL Pt BIVa) auf.

Cakir et al. (2003) weisen zum Beispiel mit Hilfe der Methode der *Bulked segregant analysis* ebenso QTL für die Resistenz gegen Netzflecken an Gerste nach.

Demzufolge ist eine Anwendung der *Bulked segregant analysis* zur Detektion von Markern bei einem quantitativen Merkmal erfolgreich, wenn zusätzliche Möglichkeiten zur Berücksichtigung von Wechselwirkungen zwischen Genen und epistatische Effekte geschaffen werden.

#### **4.8 Korrelation Befallsstärke mit TYP**

Tekauz (1985) beschreibt die Bonitur des Merkmals der Symptomausprägung, welche in dieser Arbeit TYP genannt wird, als Befallsindex. Diese Boniturmethode kann nach Tekauz (1985) zur einfachen und schnellen Beurteilung der Resistenz unter kontrollierten Bedingungen angewendet werden.

Cherif und Harrabi (1990) zeigen in vier Kreuzungen eine starke Korrelation zwischen prozentuaem Anteil der geschädigten Blattfläche und dem Befallstyp. Ebenso führen übereinstimmende Ergebnisse der Untersuchungen von Brandl und Hoffmann (1991) zu engen Korrelationen ( $r = 0,83-0,86$ ) zwischen der Befallsstärke und dem TYP (Befallsindex) bei einer Infektion mit *P. teres*.

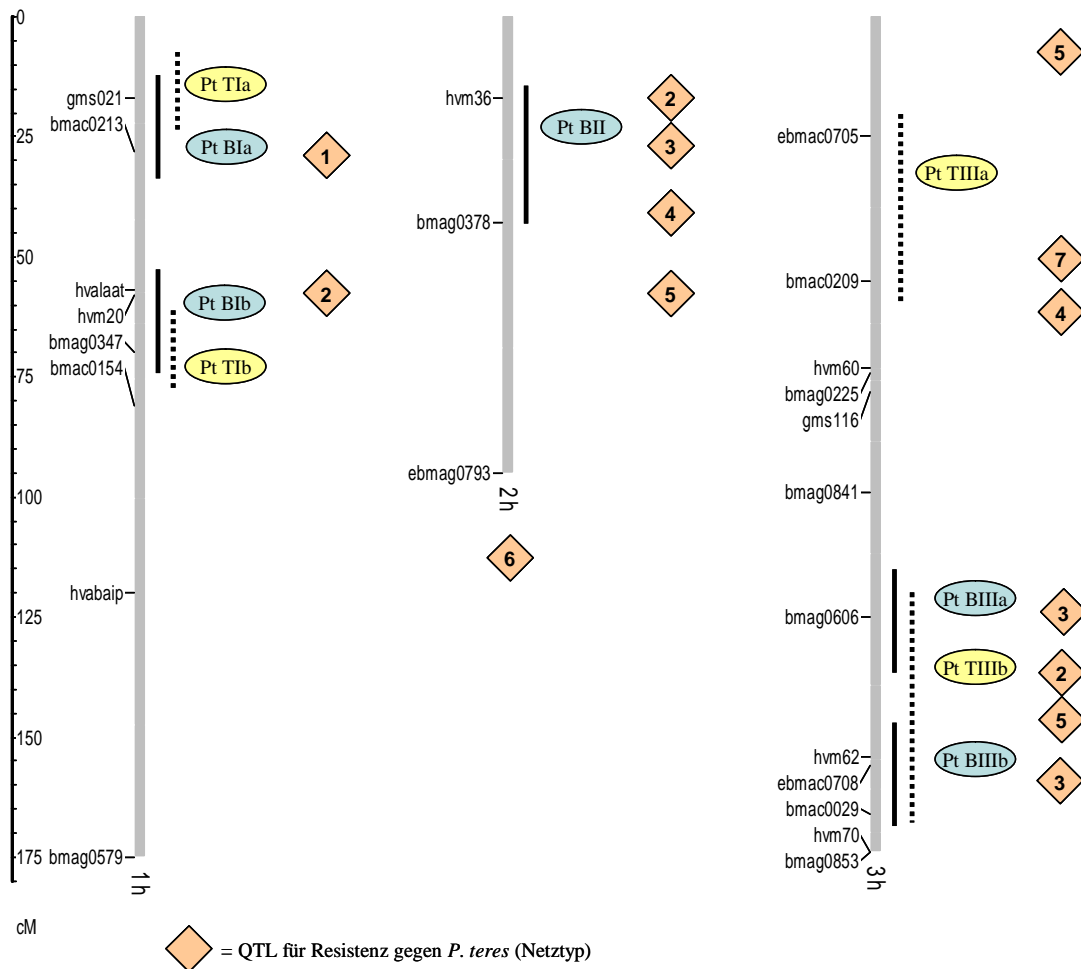
In der vorliegenden Arbeit hatte die Bonitur des TYPs den Zweck die Korrelation zur Befallsstärke zu prüfen. Dazu wurden die detektierten QRL der Befallsstärke mit den hoch signifikanten Markern mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* in Bezug auf den TYP verglichen (s. Tab. 3.18). Für den TYP konnten fünf der sechs QRL in nahezu denselben Genregionen der QRL der Befallsstärke detektiert werden. Zwei dieser QRL wurden auf Chromosom 1H (Pt T1a und Pt T1b) und je ein QRL auf 3H (Pt TIIIb), 4H (Pt TIV) sowie auf 6H (Pt TVI) festgestellt. Die Marker der zwei QRL des Merkmals Befallsstärke auf Chromosom 2H (Pt BII) wie 4H (Pt BIVb) zeigten bei der Betrachtung des Merkmals TYP keine Signifikanzen. Hingegen konnte auf Chromosom 3H bei dem Merkmal TYP ein neuer Genort als QRL (Pt TIIIa) detektiert werden. Auf Grund der Detektion dieses neuen zusätzlichen QRL Pt TIIIa scheint die Expression der beiden Merkmale trotz der starken Korrelation von 0,91243 zwischen der Befallsstärke und dem TYP in dieser Arbeit nicht ausnahmslos auf gleiche Gene zurückzuführen zu sein.

#### 4.9 Vergleich mit bisher beschriebenen QRL für Resistenz gegen *P. teres*

Für die Resistenz gegen die Netzfleckenkrankheit an Gerste sind in den letzten Jahren mittels verschiedener Markersysteme QTL ermittelt worden. Die meisten beruhen auf RFLP und AFLP Analysen. In neueren Veröffentlichungen finden zudem SSR-Marker den Einsatz zur Detektion der Resistenzloci.

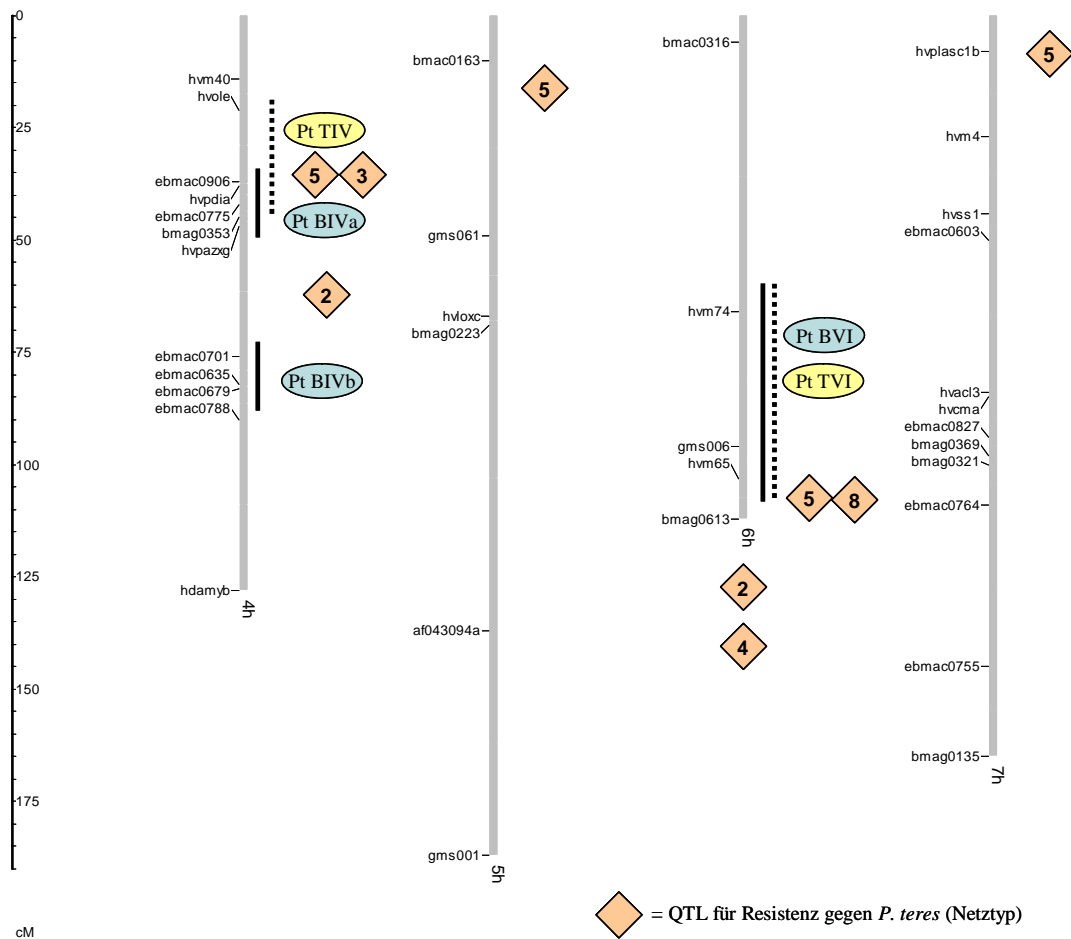
Die vorwiegend mit AFLP-Markern detektierten QTL aus der Arbeit von Richter (1998) konnten mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003) in der eigenen SSR-Marker-Karte lokalisiert werden, so dass ein Vergleich mit den eigenen detektierten QRL möglich wurde (s. Abb. 4.1 und Abb. 4.2). Dabei zeigen sich bei vier der QTL bzw. QRL Übereinstimmungen in der Lokalisation auf dem Genom. Der QTL P3 auf 1H von Richter (1998) kartiert in der Nähe von HVALAAT und könnte mit dem QRL Pt BIb übereinstimmen. P3 auf dem kurzen Arm von Chromosom 2H wird in der Umgebung von HVM36 lokalisiert, welcher in der vorliegenden Arbeit dem QRL Pt BII zugeordnet wird. Des Weiteren könnten auf dem langen Arm von 3H die Lage der QTL von Richter (1998) der Genregion von QRL Pt BIIIa und Pt BIIIb entsprechen. Auf Chromosom 4H kartieren die QTL M4 und P4 von Richter (1998) in der Nähe des Centromers und liegen damit vermutlich zwischen den QRL Pt BIVa und Pt BIVb der vorliegenden Arbeit. Für die QTL-Regionen auf dem langen Arm von 2H und 4H und auf dem kurzen Arm von 3H von Richter (1998) zeigen die in dieser Arbeit untersuchten SSR-Marker keine Beziehung zur Resistenz gegenüber dem Erreger der Netzfleckenkrankheit. Jedoch zeigen sowohl die Arbeit von Richter (1998) als auch die vorliegende Arbeit auf Chromosom 5H und 7H keine Effekte hinsichtlich der untersuchten Resistenz.

Die von Richter (1998) detektierten QTL auf Chromosom 6H konnten nicht mit den vorliegenden Ergebnissen verglichen werden, da in Folge fehlender Ankerpunkte zwischen den Markerkarten keine Aussage bezüglich der Lokalisation getroffen werden konnte. Jedoch ist es nicht ausgeschlossen, dass die acht von Richter (1998) beschriebenen QTL-Marker-Intervalle auf diesem Chromosom dem QRL Pt BVI entsprechen.



**Abb. 4.1:** QTL und QRL der Resistenz gegen *P. teres* (Netztyp) der Chromosomen 1H-3H, QRL aus der vorliegenden Arbeit der Merkmale Befallsstärke (Linie mit Beschriftung Pt B.. in Oval) und TYP (durchbrochene Linie mit Beschriftung Pt T.. in Oval); nummerierte QTL in Karo entsprechen folgenden Literaturquellen, welche mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003) in der eigenen SSR-Marker-Karte lokalisiert wurden:

- (1) Kopahnke und Saker (2002)
- (2) Richter (1998)
- (3) Raman et al. (2003)
- (4) Cakir et al. (2003)
- (5) Steffenson et al. (1996)
- (6) Ho et al. (1996)
- (7) Graner et al. (1996)



**Abb. 4.2:** QTL und QRL der Resistenz gegen *P. teres* (Netztyp) der Chromosomen 4H-7H, QRL aus der vorliegenden Arbeit der Merkmale Befallsstärke (Linie mit Beschriftung Pt B.. in Oval) und TYP (durchbrochene Linie mit Beschriftung Pt T.. in Oval); nummerierte QTL in Karo entsprechen folgenden Literaturquellen, welche mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003) in der eigenen SSR-Marker-Karte lokalisiert wurden:

- (2) Richter (1998)
- (3) Raman et al. (2003)
- (4) Cakir et al. (2003)
- (5) Steffenson et al. (1996)
- (8) Manninen et al. (2000)

Die häufige Übereinstimmung der detektierten QTL bzw. QRL dieser beiden Arbeiten könnte zum einen durch einen gleichen Ursprung des genetischen Hintergrundes hinsichtlich der Resistenzgene des Wildelters 41923 der vorliegenden Arbeit und des Wildelters *Hor 9088* der Population von Richter (1998) bedingt sein. Diese Annahme würde in der vorliegenden Arbeit durch die festgestellte Allelfrequenzänderung zu Gunsten des Wildelterallels in der resistenten Extrema-Gruppe an den QRL Pt BIa, Pt BII, Pt BIIIa, Pt BIIIb und Pt BIVa gestützt. Dagegen sprechen könnten die verschiedenen Herkunftsländer der Wildformen (*41923* Israel, *Hor 9088* Äthiopien) sowie deren Abstammung (*41923 Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*, *Hor 9088 Hordeum vulgare* ssp. *defiens*).

Zum anderen wäre ebenso die Verwendung des gleichen Kulturelterers *Arena* der beiden analysierten Kreuzungen als Ursache für die vermutlich in der gleichen Genregion kartierenden QRL Pt BIVb und Pt BVI mit QTL dieser Loci von Richter (1998) denkbar. Dieses würde durch die entsprechende Allelfrequenzänderung in Richtung des Kulturelterallels der resistenten Extrema-Gruppe bekräftigt.

Ho et al. (1996) konnten in einer Untersuchung von drei *P. teres* Isolaten ein bis drei für die Resistenz verantwortliche Gene detektieren. Nur eines dieser Resistenzgene konnte über die Verkettung zu den detektierten Genen der Ährentyp und *Lemma*-Farbe auf Chromosom 2H lokalisiert werden, welches dem QRL Pt BII entsprechen könnte. Jedoch wird wie in dieser Arbeit ebenso von einer quantitativen Resistenz ausgegangen.

Der QRL Pt BIa wird von Kopahnke und Saker (2002) mit dem SSR-Marker Bmac0213 als Locus für die Markierung resistenter Pflanzen gegen Netzflecken beschrieben. In den vorliegenden Daten konnte diesem Marker nur in den Interaktionen der Testpopulation positive signifikante Effekte auf die Resistenz nachgewiesen werden. Hingegen zeigten alle Untersuchungen dieses Locus in der Golf-Population negative Effekte auf die Resistenzeigenschaft der analysierten Pflanzen. Die eigenen Daten deuten auf den hoch signifikanten Marker GMS021, welcher 11 cM von Bmag0213 entfernt liegt, als QRL dieser Resistenzregion hin.

Unter der Anwendung von AFLP- und SSR-Markern und der *Bulked segregant analysis* in zwei DH-Populationen mit je 300 Pflanzen, zur Identifizierung von Markern und deren anschließender Lokalisation in spaltenden Populationen, wurden je ein Resistenzgen auf 2H, 3H und 6H detektiert (Cakir et al. 2003). Der QTL auf 6H verzeichnet in dieser Arbeit mit einem LOD-Wert zwischen 13,71 und 41,31 die größte Bedeutung für die Resistenz. In den vorliegenden Ergebnissen stellten sich die entsprechenden Marker dieser Region, HVM74 und Bmag0613 (QRL Pt BVI), mit hohen F-Werten dar. Mit Ausnahme der ersten

*single point analysis* der beiden Extrema-Gruppen liegt jedoch in der vorliegenden Arbeit der Haupteffekt der Resistenz in der Betrachtung der einzelnen Genorte in der Region des Marker Bmag0606 (QRL Pt BIIIa), welcher durch die höchsten F-Werte gekennzeichnet ist. Der detektierte QTL auf 2H von Cakir et al. (2003) konnte in der eigenen Karte zwischen den Markern HVM36 und Bmag0378 lokalisiert werden und liegt damit im QRL Pt BII. Indes wird der dritte von Cakir et al. (2003) beschriebene QTL auf dem kurzen Arm von 3H lokalisiert. In dieser Genregion wurden an Hand der Ergebnisse der eigenen Arbeit nur ein QRL für das Merkmal TYP detektiert (QRL Pt TIIIa). Da die Ergebnisse von Cakir et al. (2003) auf der Boniturmethode von Tekauz (1985) basieren, dem Infektionstyp, könnte dieser QTL auf 3H die Annahme unterstützen, dass die Expression der Befallsstärke und des TYPs auf teils verschiedene Gene zurückzuführen sind (s. Kap. 4.8). Die Ergebnisse der QTL-Analyse von Raman et al. (2003) scheinen jedoch diesem Gedanken zu widersprechen, da in dieser Untersuchung mit der gleichen Boniturmethode, dem Infektionstyp, kein QTL in der Region von Pt TIIIa gefunden wurde. In den vier analysierten Populationen detektierten Raman et al. (2003) mit RFLP-, AFLP-, SSR- sowie SNP-Markern insgesamt fünf QTL auf Chromosomen 2H, 3H und 4H. Der in drei Populationen verifizierte QTL auf dem kurzen Arm von 2H kartiert in der eigenen Karte wieder in der Nähe von HVM36 (QRL Pt BII). Ebenso können die *QRpt3La* und *QRpt3Lb* in der Nähe der eigenen detektierten QRL Pt BIIIa und Pt BIIIb lokalisiert werden. Für die markergestützte Selektion des QTL *QRpts4* empfehlen Raman et al. (2003) den SSR-Marker EBmac0906. In der vorliegenden Arbeit beschreibt dieser Marker mit HVPDIA den für die Resistenz neben Pt BIIIa am wirkungsvollsten QRL Pt BIVa. Eine *zwei-Locus* Analyse von Raman et al. (2003) zur Entdeckung von epistatischen Effekten zeigte im Gegensatz zur eigenen Arbeit keine signifikanten Interaktionen.

Der von Graner et al. (1996) mittels RFPL-Markern detektierte QTL Pt.,a für die Resistenz gegen Netzflecken kartiert in der Nähe des Centromers von 3H. Diese Genregion könnte in der Umgebung des QRL Pt TIIIa liegen, welche in der vorliegenden Arbeit nur einen Hinweis auf den TYP jedoch keinen Hinweis auf einen Bezug zur Resistenzeigenschaft der untersuchten Populationen bezüglich der Befallsstärke aufwies.

In der Genkarte aus vorwiegend retrotransposon-basierenden Markern von Manninen et al. (2000) wird ein QTL für die Resistenz gegen *P. teres* auf dem Chromosom 6H in einem Abstand zu HVM65 von ca. 17 cM markiert. Damit wird der in der vorliegenden Arbeit detektierte Resistenzlocus Pt BVI sowohl von Cakir et al. (2003) und Richter (1998) als auch von Manninen et al. (2000) bestätigt.

Der von Williams et al. (1999) beschriebenen QTL auf dem langen Arm von 7H für die Resistenz gegen den Spot-Typ der Netzfleckenkrankheit an Gerste kann für den Netz-Typ der Netzfleckenkrankheit an Gerste mit den eigenen Ergebnissen nicht bestätigt werden. Hingegen finden sich Angaben für einen QTL für den Netz-Typ auf 7H in der vergleichenden Analyse von Steffenson et al. (1996). In dieser Untersuchung werden ebenso QTL für die Resistenz des Netz-Typs auf 1H, 2H, 3H, 4H und 6H beschrieben. Lediglich auf 1H und 5H werden QTL für den Spot-Typ angegeben.

Die vielen Übereinstimmungen der detektierten QTL verschiedener Autoren mit den QRL der vorliegenden Analysen zeigen zum einen, dass es sich wie angenommen um eine quantitative Resistenz handelt und zum anderen, dass die Gene für die Resistenzeigenschaft von Pflanzen gegen *P. teres* mit unterschiedlichen Analysemethoden nachweisbar sind.

#### **4.10 Lokalisation von Resistenzgenen in Gerste**

Bei einem Vergleich der Lokalisation der vorliegenden QRL für die Resistenz gegen *P. teres* mit Genorten anderer beschriebener Resistenzgene der Gerste kann festgestellt werden, dass an einigen Genregionen vermehrt Resistenzgene detektiert werden. Die Einordnung der entsprechenden Genorte in das System der Bin-Map erfolgte mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003). Hierbei zeigten sich auf den Chromosomen 1H Bin 2, 3H Bin 6, 4H Bin 6, 5H Bin 4 und 13, 6H Bin 6 und 7H Bin 1 Häufungen verschiedener Resistenzgene (s. Tab. 4.3). Bei der Übertragung der QRL der vorliegenden Arbeit repräsentieren diese dieselben Genregionen. Eine Ausnahme bildet lediglich der QRL Pt BIb, welcher nicht in unmittelbarer Nachbarschaft zu einem anderen beschriebenen Resistenzgen lokalisiert werden kann.

Möglicherweise beeinflussen sich die einzelnen Gene der verschiedenen Resistenzen untereinander oder gehören zu einem gleichen Resistenzmechanismus, welcher zur Abwehr mehrerer Pathogene führt.

**Tab. 4.3:** Vergleich der eigenen QRL mit Resistenzgenen verschiedener Krankheiten an Gerste, Einordnung mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003)

Chromosom	Bin	QRL / Gen	Krankheit	Referenz
1H	2	<b>QRL Pt BIa</b>		
	2	Mla6	<i>Erysiphe graminis</i>	Halterman et al. (2001)
	2	Rrs14	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Garvin et al. (2000)
	3	ym7	Barley YMV complex	Graner et al. (1995)
	7	<b>QRL Pt BIb</b>		
	14	Un8	<i>Ustilago nuda</i>	Eckstein et al. (2002)
2H	1	Rph.Hb	<i>Puccinia hordei</i>	Pickering et al. (1998)
	2	<b>QRL Pt BII</b>		
	6	Rph16	<i>Puccinia hordei</i>	Drescher et al. (2000)
	11	Ha2	Zystennematode	Kretschmer et al. (1997)
3H	6	Yd2	BYDV	Collins et al. (2001)
	6	Pt.,a	<i>Pyrenophora teres</i> (Netzform)	Graner et al. (1996)
	6	Rh	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Graner und Tekauz (1996)
	6	Rrs1	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Ruth et al. (2003)
	6	Rhy	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Barua et al. (1993)
	12?	<b>QRL Pt BIIIa</b>		
	14	<b>QRL Pt BIIIb</b>		
		16	ym5	Barley YMV complex
	16	ym4	Barley YMV complex	Graner und Bauer (1993)
4H	6	ym11	Barley YMV complex	Bauer et al. (1997)
	6	Mlg	<i>Erysiphe graminis</i>	Kürth et al. (2001)
	7	<b>QRL Pt BIVa</b>		
	10	<b>QRL Pt BIVb</b>		
	10	mlo	<i>Erysiphe graminis</i>	Büschges et al. (1997)
	13	ym8	Barley YMV complex	Bauer et al. (1997)
	13	ym9	Barley YMV complex	Bauer et al. (1997)
5H	4	ym3	Barley YMV complex	Saeki et al. (1999)
	4	Rph2	<i>Puccinia hordei</i>	Borovkova et al. (1997)
	7	Mlj	<i>Erysiphe graminis</i>	Schönfeld et al. (1996)
	13	Ha4	Zystennematode	Barr et al. (1998)
	13	Rph12	<i>Puccinia hordei</i>	Borovkova et al. (1998)
	13	Rph9	<i>Puccinia hordei</i>	Borovkova et al. (1998)
6H	2	Rrs13	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Abbott et al. (1995)
	6	rym15	Barley MMV complex	Le Gouis et al. (2004)
	6	Rpt.CI9819	<i>Pyrenophora teres</i> (Netzform)	Manninen et al. (2000)
	6-9?	<b>QRL Pt BVI</b>		
7H	1	Rdg2a	<i>Pyrenophora graminea</i>	Tacconi et al. (2001)
	1	mlt	<i>Erysiphe graminis</i>	Schönfeld et al. (1996)
	1	Rh2	<i>Rhynchosporium secalis</i>	Schmidt et al. (2001)
	1	Pg1	<i>Puccinia graminis</i>	Kilian et al. (1997)
	3	Rcs5	<i>Pyrenophora teres</i> (Spotform)	Steffenson et al. (1996)
	7	Rsm	Barley stripe mosaic	Edwards und Steffenson (1996)
		11	Mlf	<i>Erysiphe graminis</i>



#### 4.11 Stabilität von Resistenz-QTL

Die Expression von Merkmalen wird neben den Umweltfaktoren zugleich von der Stabilität der Genetik des Merkmals, in diesem Falle des QTL für die Resistenz, beeinflusst.

Eine zentrale Frage der bei Pflanzen im Keimlingsstadium detektierten QTL bzw. QRL ist die der Stabilität der Resistenz in fortgeschrittenen Wachstumsstadien. Douiyssi et al. (1998) beobachten bei der Infektion mit *P. teres* an Keimlingspflanzen und ausgewachsenen Pflanzen oft Unterschiede in den Reaktionen zum selben Isolat. Hingegen zeigen Gupta et al. (2003) eine hohe Korrelation ( $R^2=0,64$ ) zwischen der Resistenzeigenschaft von Pflanzen im Zweiblattstadium und von adulten Pflanzen im Feld. Von den 69 getesteten Gerstenpflanzen zeigte keine im Zweiblattstadium resistente Pflanze als Adulte eine Anfälligkeit gegen das Pathogen. Daher empfehlen Gupta et al. (2003) diese Methode für die Resistenztestung. In einer genetischen Analyse der Resistenz beschreibt Schaller (1955) zudem, dass dasselbe Gen die Resistenz von Keimlingen im Gewächshausversuch und die Resistenz der erwachsenen Pflanzen im Feld bedingt.

Die Stabilität der Resistenzeigenschaft der Pflanze hängt jedoch nicht nur von der unveränderten Genetik der Pflanze selber ab. Ein Durchbrechen der Resistenzeigenschaft der Pflanze kann gleichfalls durch eine Veränderung der Genetik des Pathogens, hier des Erregers der Netzfleckenkrankheit, zustande kommen. Von untersuchten Monoconidial-Isolaten aus infiziertem Material und Stämmen einzelner Ascosporen bleiben eine Vielzahl in der Kultur stabil. Jedoch konnten bei einigen Isolaten Mutationen zu atypischen Varianten beobachtet werden (McDonald 1967). Beispielsweise könnte eine Mutation zu einem Fehler in der Genexpression von PTK1 führen, wodurch das Pathogen nicht mehr in der Lage ist Konidien und Appressorien zu formieren (Ruiz-Roldan et al. 2001) und so eine Infektion unterbleibt.

#### 4.12 Wirkungsweise der QRL

Über die Funktionsweise der Resistenzgene gegen *P. teres* gibt es mehrere Untersuchungen (vgl. Kap. 1.5), jedoch können keine Hinweise zur Lokalisation dieser Gene auf dem Gerstengenom gefunden werden. Daher ist es bisher noch nicht möglich für die detektierten QRL Angaben über deren Wirkungsweise im Resistenzmechanismus zu geben. Als Möglichkeiten werden beispielsweise die Synthese von Hordein, ein Prolamin, welches einem Befall mit Netzflecken vorbeugt (Allelopathie), oder die postinfektionelle Abwehrmechanismen der induzierten Resistenz (z.B. Papillenbildung bei beginnender Penetration der Erregers, *oxidative burst*) beschrieben (Jorgensen et al. 1998; Rothe et al. 1998).

### 4.13 Introgression von Wildallelen

Die Introgression von Resistenzgenen aus Wildgerstenformen (*Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum*) in Kulturgersten (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) wird zur Verbesserung der genetischen Basis und damit verbunden zur Steigerung des Leistungsniveaus eingesetzt.

In einer Analyse zur Charakterisierung der genetischen Diversität einer *Core Collection* von 143 *H. vulgare* ssp. *spontaneum*-Akkessionen kann sowohl das Auftreten von möglichen Duplikaten als auch eine hohe genetischen Variabilität aufgezeigt werden (Liu et al. 2002). Die Wahl der Wildform sollte sich nach Schacht (1998) dabei nicht an deren Eigenleistung für quantitativ vererbte Merkmale orientieren, sondern sich nach deren Resistenz- und Qualitätseigenschaften richten. Schacht schlägt zudem eine Prüfung der Ertragsparameter sowie andere quantitative Merkmale durch Rückkreuzungsnachkommenschaften vor. Walther et al. (1999) stimmt mit Schacht (1998) darüber ein, dass durch wenige Rückkreuzungen mit dem rekurrenten Elter oder anderen adaptierten Zuchtlinien negative agronomische Merkmale (z.B. Spindelbrüchigkeit) eliminiert werden können.

In einer Arbeit zur Introgression von Wildformallelen zeigt Zacharias (2002), dass in verschiedenen genetischen Hintergründen Merkmale spezifischer Wildformallele unterschiedlich ausgeprägt werden können. Daher führt eine Introgression detektierter Loci zur Merkmalsverbesserung nicht in jedem Falle zu positiven Ergebnissen. Jedoch spricht sich Zacharias für eine markergestützte Introgression von Wildformallelen aus, welcher einer Testung des genetischen Hintergrunds der zur verbessernden Sorte oder Stamm vorausgegangen ist.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen deutliche befallsreduzierende Effekte durch die Introgression der Resistenzgene aus dem Wildelter 41923 in die Kultureltern Berolina, Golf, Pasadena und vor allem den Kulturelter Arena (s. Kap. 4.4). Jedoch können keine Angaben über das Leistungsniveau der Resistenzträgerpflanzen gemacht werden, da in dieser Arbeit diese Parameter nicht berücksichtigt worden sind.

#### 4.14 Voraussichtlicher Nutzen und Verwendbarkeit der Ergebnisse

Das Ziel dieser Arbeit das/die Resistenzgen/e gegen *Drechslera teres* aus einer Wildgerstenform in eine Kultursorte zu überführen (Introgression) ist nach den statistischen Auswertungen (s. o.) erreicht worden. Weitaus wichtiger sind hierbei jedoch die Marker, mit deren Hilfe diese Informationen auch reproduzierbar in weiteren Sorten überführt werden können.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit deuten auf ein polygenes Merkmal der Resistenz gegen Netzflecken an Gerste hin. Dies bestätigt unter anderem die Ergebnisse von Richter (1998) und Ho et al. (1996). Aufgrund der eigenen Ergebnisse wird die Hypothese aufgestellt, dass die Resistenz durch mindestens zwei Genorte bedingt wird. Dadurch kann die Befallsstärke erheblich (hier bis zu 98%, Pt BIIIa\*Pt BIVa) reduziert werden. Weitere Genorte können noch ergänzend wirken. Solche epistatischen Effekte zwischen drei homozygoten Wildeltermotyploci konnten jedoch trotz der Anzahl von 636 Pflanzen der Testpopulation nicht beobachtet werden.

Durch eine markergestützte Selektion kann diese Resistenz in Kultursorten nutzbar gemacht werden. Für diese Methode eignen sich durch ihre stetigen hohen Signifikanzen am besten die SSR-Marker GMS021 (QRL Pt BIa), HVM36 (Pt BII), Bmag0606 (QRL Pt BIIIa), HVPDIA und EBmac0906 (QTL Pt BIVa). Der zuletzt genannte Marker wird ebenfalls von Raman et al. (2003) für die markergestützte Selektion der Resistenzgene gegen *P. teres* empfohlen.

Als weiterführender Aspekt ist anzumerken, dass die Resistenzgene der QRL Pt BIa, Pt BII, Pt BIIIa, Pt BIIIb und Pt BIVa aus der Wildform stammen. Bei einer Nutzung der markergestützten Selektion ist der Abstand von den Markern zu den Resistenzgenen grundsätzlich so gering wie möglich zu gestalten, da die Gefahr der Integration von unerwünschten Eigenschaften bzw. Allelen gerade bei Wildformeinkreuzungen besonders deutlich ist. In solch einem System wäre es ideal, wenn die beteiligten Resistenzgene langfristig selbst identifiziert werden könnten.

Die von Douiyssi et al. (1998) beobachtete Variabilität des Pathogens *P. teres* und das Fehlen von Gerstenlinien, die gegen alle Isolate resistent sind, legen den Gedanken an eine Pyramidisierung der Resistenzgene nahe. Raman et al. (2003) spricht in diesem Zusammenhang von der Notwendigkeit, die verschiedenen QTL und Major-Gene der Resistenz gegen die Netzfleckenkrankheit an Gerste für ein weites Spektrum und einen hohen Level der Resistenzeigenschaft der Pflanzen zu kombinieren. Unter dieser Hypothese kann die Resistenz in Kultursorten durch die Nutzung von Resistenztest und der markergestützten Selektion erfolgen.

Aus dem Vergleich der Ergebnisse dieser Arbeit mit anderen QTL-Lokalisationen für die Resistenz gegen *P. teres* ist erkennbar, dass die detektierten QTL mit vielen Genregionen schon beschriebener QTL der Resistenz verifiziert werden können (s. Kap. 4.9). Dies deutet auf einen weit fortgeschrittenen Stand der QTL-Analyse dieser Resistenz hin. Dem gegenüber werden die Mechanismen der untersuchten Resistenz beschrieben (s. Kap. 1.5 und Kap. 4.12), welche jedoch keine Verbindung zu den bisher lokalisierten QTL der Resistenz ermöglichen.

Zukünftige Forschungen könnten diese beiden Ergebnisgebiete miteinander in Verbindung setzen, um einen gezielten Einsatz der Resistenzgene je nach notwendigem Mechanismus zu fördern.

## 5. Zusammenfassung

Dem Erreger der Netzfleckenkrankheit an Gerste, *Pyrenophora teres*, kommt bei den pilzlich bedingten Blattkrankheiten der Gerste eine immer wichtiger werdende wirtschaftliche Bedeutung zu. Es wird von durchschnittlichen Ertragseinbußen bis zu 40 % berichtet (Brandl und Hoffmann 1991). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurde eine neue Resistenzquelle aus *Hordeum vulgare* ssp. *spontaneum* gegen *P. teres* zur Verbesserung der Resistenz von Kulturgersten (*Hordeum vulgare* ssp. *vulgare*) genutzt.

Zur Detektion der QRL (*Quantitative resistance loci*) gegen Netzflecken wurden *in vitro* Resistenztestungen mit dem Isolat 67/1 (Sachs, BBA Braunschweig) des Erregers *P. teres* in drei BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Populationen (BGRC 41923 x Arena mit 636 Pflanzen, Berolina und Golf mit je ca. 150 Pflanzen) und einer neu angelegten F<sub>2</sub>-Population (BGRC 41923 x Pasadena mit 150 Pflanzen) durchgeführt. Anschließend erfolgten eine Genotypisierung der Pflanzen mittels SSR-Marker und eine QTL-Analyse.

Aus den 636 BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Pflanzen der Testpopulation Arena x BGRC 41923 wurden anhand der Ergebnisse der Resistenztestung nach der *Bulked segregant analysis* (Michelmore et al. 1991) eine resistente und eine anfällige Extrema-Gruppe gebildet, welche je 15 % der Population widerspiegeln. Aus den Daten der Genotypisierung dieser beiden Extrema-Gruppen wurden putative SSR-Marker detektiert, welche in der *single point analysis* Irrtumswahrscheinlichkeiten von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* sowie Allelfrequenzänderungen an diesen Loci in die Richtung des Wildelterallels der resistenten Extrema-Gruppe aufwiesen. Mit diesen putativen Markern und deren flankierenden Markern wurde die gesamte Testpopulation genotypisiert. Auf diesem Wege konnte die QRL Pt BIa (GMS021, 1H), Pt BII (HVM36, 2H), Pt BIIIa (Bmag0606, 3H), Pt BIIIb (EBmac0708, 3H) und QRL Pt BIVa (HVPDIA, EBmac0906, 4H) detektiert werden. Marker mit Irrtumswahrscheinlichkeiten von  $\alpha \leq 0,001$  \*\*\* sowie Allelfrequenzänderungen an diesen Loci in die Richtung des Kulturelterallels der resistenten Extrema-Gruppe wurden auf 4H (EBmac0635, EBmac0679, QRL Pt BIVb) sowie auf 6H (HVM74, Bmag0613, QRL Pt BVI) nachgewiesen.

Von den detektierten QRL zeigten in der Einzelgenort-Betrachtung jedoch nur Pt BII, Pt BIIIa und Pt BIVa eine Reduktion der Befallsstärke von dem homozygoten Kultureltergenotyp zu dem homozygoten Wildeltergenotyp um 50 % - 75 % auf 3,7 % - 8,3 %. An den übrigen Loci konnte keine Veränderung oder eine Steigerung des Befalls beobachtet werden. Zusätzlich zu diesen putativen QRL konnten epistatische Effekte festgestellt werden.

Insbesondere waren die Interaktionen zwischen Pt BIb\*Pt BIVa und Pt BIIIb\*Pt BIVa in der Lage eine hoch signifikante Befallsreduktion unter 1 % Befallsstärke in der *single point analysis* zu bewirken. Die signifikante Bedeutung der nicht befallssenkenden QRL der Einzelgenort-Betrachtung konnte in den Interaktionen herausgestellt werden. Hier zeigten diese QRL signifikante Interaktionen (Pt BIa\*Pt BII, Pt BIa\*Pt BVI, Pt BIb\*Pt BVI, Pt BIIIa\*Pt BIVa, Pt BIIIa\*Pt BIVb) mit mittleren Befallsstärken des homozygoten Wildeltergenotyps unter 5 %.

Zur Verifikation wurden zwei BC<sub>2</sub>F<sub>2</sub>-Verifikationspopulation Berolina x BGRC 41923 mit 174 Pflanzen und Golf x BGRC 41923 mit 154 Pflanzen sowie eine F<sub>2</sub>-Verifikationspopulation Pasadena x BGRC 41923 mit 167 Pflanzen verwendet. Diese Pflanzen wurden mittels der putativen SSR-Markern der Testpopulation im Hinblick auf die QRL analysiert. Die QRL Pt BIa, Pt BIIIa, Pt BIVa sowie die Interaktion Pt BIIIa\*Pt BIVa konnten auf diese Weise bestätigt werden. In der Golf-Population konnten keine Interaktionen dargestellt werden. Diese Tatsache macht deutlich, dass der Umfang der Verifikationspopulation zum ausführlicheren Vergleich erhöht werden müsste.

Bei der Überprüfung der untersuchten neuen Resistenzquelle konnte übereinstimmend mit der Untersuchung von Richter (1998) festgestellt werden, dass die *Drechslera teres*-Resistenz durch zahlreiche Genregionen kontrolliert wird. Mit Ausnahme des QRL Pt IVb werden für alle detektierten QRL in verschiedenen Literaturquellen QTL für diese Resistenz in ähnlichen Genregionen beschrieben. Zudem konnten in dieser Arbeit bisher noch nicht beschriebene epistatische Effekte nachgewiesen werden, welche eine starke Befallsreduktion bewirken.

Die angewandte Methode der *Bulked segregant analysis* erwies sich zur Detektion eines quantitativen Merkmals als erfolgreich. Die Verifizierung der QRL der vorliegenden Arbeit mit den bisher meist einzeln beschriebenen QTL für die Resistenz gegen *P. teres* bestätigt die Vorgehensweise der Untersuchung von Einzelpflanzen der Extrema-Gruppen einer Population zur Detektion von QTL.

Zusammengefasst kann festgestellt werden, dass für eine Resistenzzüchtung gegen Netzflecken mindestens zwei Resistenzgene gemeinsam überführt werden müssen. Eine Pyramidisierung der Resistenzgene kann zudem zu einer weiteren Steigerung der Resistenzeigenschaft von Pflanzen führen. Für die markergestützte Introgression der resistenzverursachenden Wildformallele bieten sich die SSR-Marker der einzelnen QRL (s.o.) an. Insbesondere die Marker Bmag0606 (Pt BIIIa) und EBmac0906 (Pt bIVa) kennzeichnen sich durch ihre hohen Signifikanzen in allen vier Populationen für diesen Zweck aus.

## 6. Anhang

**Tab. 6.1:** Ergebnisse der *single point analysis* der beiden Extrema-Gruppen der Testpopulation (30 % der Arena-Population) zur Identifikation putativer mit der Resistenz gegen *P. teres* gekoppelten SSR-Markern; Angabe des Vorliegens einer Allelfrequenzänderung an den hoch signifikanten Loci (S. 104-104)

Varianzursache	F-Wert	Irrtumswahr- scheinlichkeit	Signifikanz* Befallsstärke	Allelfrequenzänderung zwischen beiden Extrema-Gruppen an den *** -Loci
EBmac0871	1.22	0.2696	n.s.	
Bmag0211	2.54	0.1113	n.s.	
Bmag0222	3.80	0.0515	n.s.	
<b>Bmac0213</b>	<b>0.04</b>	<b>0.8502</b>	<b>n.s.</b>	
<b>HVPDIA</b>	<b>18.34</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
<b>EBmac0906</b>	<b>15.65</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
<b>EBmac0708</b>	<b>10.08</b>	<b>0.0010</b>	<b>***</b>	ja
<b>Bmag0606</b>	<b>13.05</b>	<b>0.0003</b>	<b>***</b>	ja
<b>GMS021</b>	<b>19.32</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
<b>Bmag0378</b>	<b>0.23</b>	<b>0.6328</b>	<b>n.s.</b>	
<b>HVM62</b>	<b>0.14</b>	<b>0.7075</b>	<b>n.s.</b>	
<b>Bmac0029</b>	<b>0.81</b>	<b>0.3676</b>	<b>n.s.</b>	
<b>HVM74</b>	<b>36.96</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
<b>HVALAAT</b>	<b>5.86</b>	<b>0.0156</b>	<b>*</b>	
<b>EBmac0775</b>	<b>1.13</b>	<b>0.2887</b>	<b>n.s.</b>	
<b>Bmag0613</b>	<b>41.04</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
HVCMA	1.88	0.1709	n.s.	
HVPAZXG	0.17	0.6774	n.s.	
HVSS1	9.31	0.0023	*	
HDAMYB	4.37	0.0367	*	
HVM4	5.23	0.0224	*	
HVM20	3.53	0.0607	n.s.	
<b>HVM36</b>	<b>9.75</b>	<b>0.0010</b>	<b>***</b>	ja
HVM40	0.20	0.6581	n.s.	
HVM60	0.43	0.5115	n.s.	
HVM65	11.54	0.0007	***	nein
HVM70	1.39	0.2384	n.s.	
HVACL3	0.11	0.7361	n.s.	
HVABAIP	18.56	<.0001	***	ja
HVLOXC	0.01	0.9287	n.s.	
GMS006	33.07	<.0001	***	nein
GMS027	39.44	<.0001	***	nein
GMS001	. <sup>*1</sup>	.		
GMS061	8.32	0.0040	*	
GMS116	2.89	0.0893	n.s.	
<b>Bmag0347</b>	<b>26.58</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
Bmac0154	4.06	0.0443	*	
Bmac0209	1.97	0.1605	n.s.	

Varianzursache	F-Wert	Irrtumswahr- scheinlichkeit	Signifikanz* Befallsstärke	Allelfrequenzänderung zwischen beiden Extrema-Gruppen an den *** -Loci
Bmag0225	1.70	0.1927	n.s.	
Bmag0353	0.76	0.3848	n.s.	
EBmac0701	18.18	<.0001	***	ja
EBmac0788	43.78	<.0001	***	ja
Bmag0223	0.74	0.3887	n.s.	
Bmac0316	0.00	0.9531	n.s.	
Bmag0321	1.22	0.2699	n.s.	
Bmag0369	0.72	0.3972	n.s.	
Bmag0135	0.23	0.6292	n.s.	
EBmac0603	5.00	0.0255	*	
<b>EBmac0679</b>	<b>21.84</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
EBmac0705	0.31	0.5806	n.s.	
EBmac0755	0.49	0.4822	n.s.	
EBmac0764	. <sup>*1</sup>	.		
EBmac0827	0.16	0.6907	n.s.	
Bmag0579	1.81	0.1789	n.s.	
EBmag0793	4.39	0.0365	*	
Bmag0853	11.22	0.0008	***	nein
<b>EBmac0635</b>	<b>22.71</b>	<b>&lt;.0001</b>	<b>***</b>	ja
Bmac0163	7.98	0.0048	*	
AF043094A	2.33	0.1274	n.s.	
Bmag0163	17.16	<.0001	***	nein
HVPLASC1B	0.04	0.8443	n.s.	
Bmag0125	13.07	0.0030	**	
<b>Bmag0841</b>	<b>1.59</b>	<b>0.2070</b>	<b>n.s.</b>	
<b>HVOLE</b>	<b>6.95</b>	<b>0.0085</b>	<b>**</b>	
Bmag0381	. <sup>*1</sup>	.		
Bmag0337	25.48	<.0001	***	nein
Bmag0357	15.40	<.0001	***	nein

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)

\*<sup>1</sup>) zwischen Eltern polymorph, in Population monomorph



**Tab. 6.2:** Ergebnisse aller möglichen Interaktionen aus der *single point analysis* der SSR-Marker über die gesamte Testpopulation (S. 106-109)

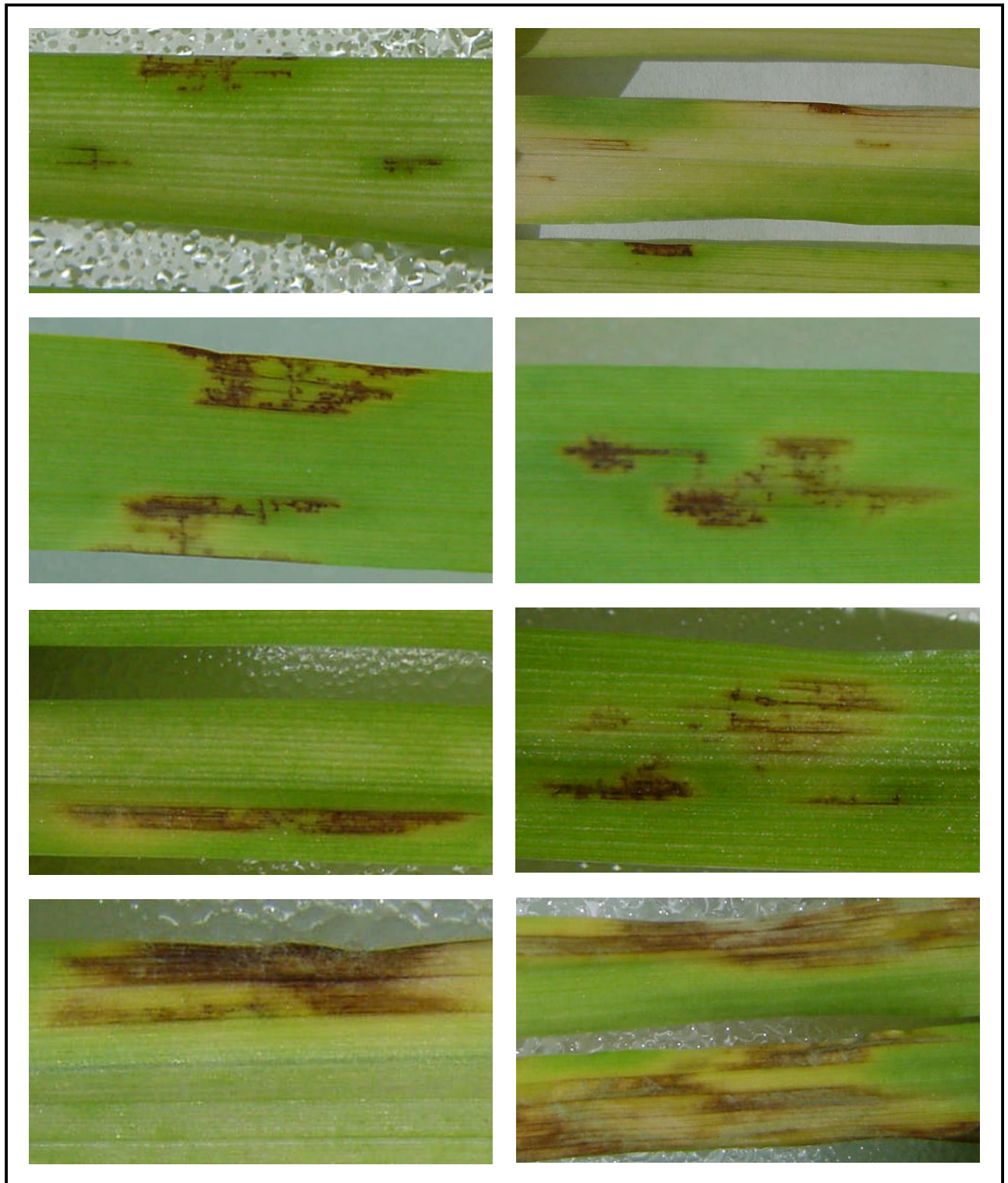
Marker-Kombination						Durchschnitts -befall der Genotypen		Signifikanz der Kombination*
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homoygot Kulturelter	Homoygot Wildelter	<i>single point analysis</i>
GMS021	1H	17	Bmac0213	1H	28	16,2	15,0	***
GMS021	1H	17	HVALAAT	1H	57	15,9	15,7	*
GMS021	1H	17	HVM36	2H	17	16,9	-	*
GMS021	1H	17	Bmag0378	2H	43	16,4	-	***
GMS021	1H	17	Bmag0841	3H	99	16,3	11,6	n.s.
GMS021	1H	17	Bmag0606	3H	125	17,9	3,0	***
GMS021	1H	17	EBmac0708	3H	156	16,6	19,6	***
GMS021	1H	17	Bmac0029	3H	166	16,5	14,8	**
GMS021	1H	17	HVOLE	4H	21	16,0	-	...
GMS021	1H	17	EBmac0906	4H	37	16,8	-	...
GMS021	1H	17	HVPDIA	4H	37,9	16,9	-	...
GMS021	1H	17	EBmac0775	4H	42	16,8	-	...
GMS021	1H	17	EBmac0635	4H	82	16,0	26,3	n.s.
GMS021	1H	17	EBmac0679	4H	83	15,9	26,3	n.s.
GMS021	1H	17	HVM74	6H	66	15,7	-	...
GMS021	1H	17	Bmag0613	6H	112	15,6	4,2	n.s.
Bmac0213	1H	28	HVM36	2H	17	16,3	-	**
Bmac0213	1H	28	Bmag0378	2H	43	15,8	1,8	***
Bmac0213	1H	28	Bmag0841	3H	99	15,6	20,2	***
Bmac0213	1H	28	Bmag0606	3H	125	16,7	8,7	***
Bmac0213	1H	28	EBmac0708	3H	156	16,5	18,3	***
Bmac0213	1H	28	Bmac0029	3H	166	16,3	14,3	***
Bmac0213	1H	28	HVOLE	4H	21	15,3	-	...
Bmac0213	1H	28	EBmac0906	4H	37	16,2	-	...
Bmac0213	1H	28	HVPDIA	4H	37,9	16,2	-	...
Bmac0213	1H	28	EBmac0775	4H	42	16,2	-	...
Bmac0213	1H	28	EBmac0635	4H	82	16,1	26,3	***
Bmac0213	1H	28	EBmac0679	4H	83	16,0	26,3	*
Bmac0213	1H	28	HVM74	6H	66	15,0	-	...
Bmac0213	1H	28	Bmag0613	6H	112	14,9	4,2	*
HVALAAT	1H	57	Bmac0213	1H	28	15,6	15,2	***
HVALAAT	1H	57	HVM36	2H	17	15,2	-	n.s.
HVALAAT	1H	57	Bmag0378	2H	43	14,9	16,7	n.s.
HVALAAT	1H	57	Bmag0841	3H	99	15,4	16,9	**
HVALAAT	1H	57	Bmag0606	3H	125	16,2	15,5	***
HVALAAT	1H	57	EBmac0708	3H	156	15,1	4,0	***
HVALAAT	1H	57	Bmac0029	3H	166	15,2	19,4	***
HVALAAT	1H	57	HVOLE	4H	21	14,2	-	...
HVALAAT	1H	57	EBmac0906	4H	37	15,0	0,6	***

Marker-Kombination						Durchschnitts -befall der Genotypen		Signifikanz der Kombination*
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homoygot Kulturelter	Homoygot Wildelter	<i>single point analysis</i>
HVALAAT	1H	57	HVPDIA	4H	37,9	15,0	0,6	***
HVALAAT	1H	57	EBmac0775	4H	42	15,2	0,7	**
HVALAAT	1H	57	Bmac0635	4H	82	15,0	25,3	***
HVALAAT	1H	57	EBmac0679	4H	83	14,8	25,3	***
HVALAAT	1H	57	HVM74	6H	66	13,9	-	...
HVALAAT	1H	57	Bmag0613	6H	112	13,7	4,2	*
Bmag0347	1H	70	GMS021	1H	17	15,9	18,9	**
Bmag0347	1H	70	Bmac0213	1H	28	15,6	15,7	***
Bmag0347	1H	70	HVALAAT	1H	57	14,9	15,2	*
Bmag0347	1H	70	HVM36	2H	17	15,2	-	n.s.
Bmag0347	1H	70	Bmag0378	2H	43	14,8	19,3	**
Bmag0347	1H	70	Bmag0841	3H	99	15,3	18,5	***
Bmag0347	1H	70	Bmag0606	3H	125	16,1	28,0	***
Bmag0347	1H	70	EBmac0708	3H	156	15,3	5,1	***
Bmag0347	1H	70	Bmac0029	3H	166	15,3	34,5	***
Bmag0347	1H	70	HVOLE	4H	21	14,2	-	...
Bmag0347	1H	70	EBmac0906	4H	37	14,9	0,6	***
Bmag0347	1H	70	HVPDIA	4H	37,9	15,0	0,6	***
Bmag0347	1H	70	EBmac0775	4H	42	15,2	0,7	***
Bmag0347	1H	70	EBmac0635	4H	82	15,1	28,6	***
Bmag0347	1H	70	EBmac0679	4H	83	14,8	28,6	***
Bmag0347	1H	70	HVM74	6H	66	13,9	-	...
Bmag0347	1H	70	Bmag0613	6H	112	13,6	4,2	**
HVM36	2H	17	Bmag0378	2H	43	16,1	-	**
HVM36	2H	17	Bmag0841	3H	99	16,0	-	n.s.
HVM36	2H	17	Bmag0606	3H	125	16,6	3,7	n.s.
HVM36	2H	17	EBmac0708	3H	156	15,9	-	n.s.
HVM36	2H	17	Bmac0029	3H	166	16,1	-	n.s.
HVM36	2H	17	HVOLE	4H	21	15,7	-	...
HVM36	2H	17	EBmac0906	4H	37	16,2	-	...
HVM36	2H	17	HVPDIA	4H	37,9	16,3	-	...
HVM36	2H	17	EBmac0775	4H	42	16,3	-	...
HVM36	2H	17	EBmac0635	4H	82	15,7	-	*
HVM36	2H	17	EBmac0679	4H	83	15,5	-	n.s.
HVM36	2H	17	HVM74	6H	66	15,5	-	...
HVM36	2H	17	Bmag0613	6H	112	15,5	-	...
Bmag0378	2H	43	Bmag0841	3H	99	15,7	12,3	n.s.
Bmag0378	2H	43	Bmag0606	3H	125	16,3	12,5	*
Bmag0378	2H	43	EBmac0708	3H	156	15,6	10,7	***
Bmag0378	2H	43	Bmac0029	3H	166	15,7	-	**
Bmag0378	2H	43	HVOLE	4H	21	15,3	-	...
Bmag0378	2H	43	EBmac0906	4H	37	15,8	-	n.s.

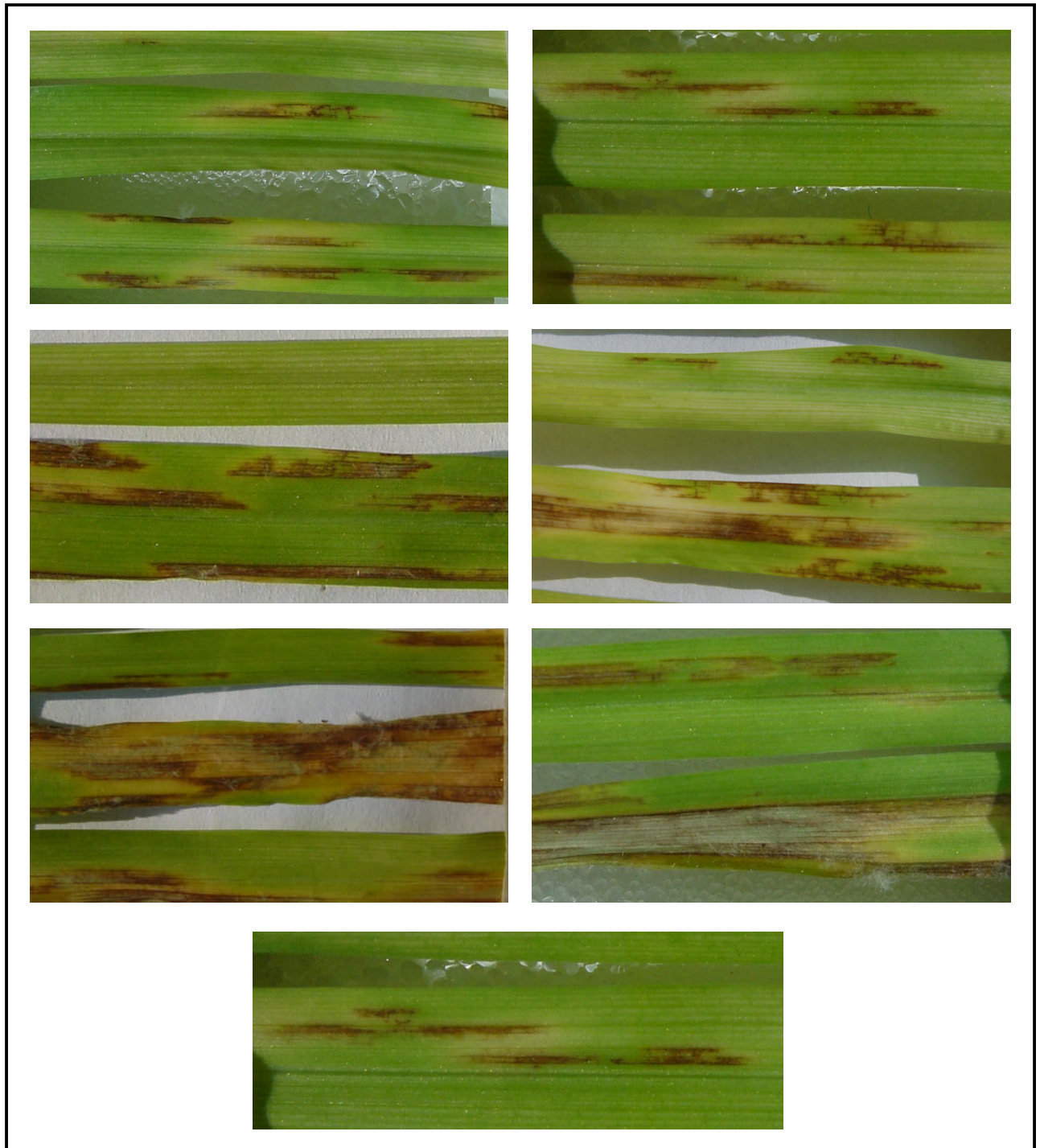
Marker-Kombination						Durchschnitts -befall der Genotypen		Signifikanz der Kombination*
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homoygot Kulturelter	Homoygot Wildelter	<i>single point analysis</i>
<b>Bmag0378</b>	2H	43	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,9	-	n.s.
<b>Bmag0378</b>	2H	43	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,9	-	**
<b>Bmag0378</b>	2H	43	<b>EBmac0635</b>	4H	82	15,2	20,0	*
<b>Bmag0378</b>	2H	43	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,1	41,0	***
<b>Bmag0378</b>	2H	43	<b>HVM74</b>	6H	66	15,1	-	...
<b>Bmag0378</b>	2H	43	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,2	-	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>EBmac0708</b>	3H	156	15,5	-	**
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>Bmac0029</b>	3H	166	15,3	0,8	***
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>HVOLE</b>	4H	21	15,4	-	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,9	2,4	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	16,0	2,4	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>EBmac0775</b>	4H	42	16,0	-	n.s.
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>EBmac0635</b>	4H	82	15,3	25,3	**
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,1	13,9	***
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>HVM74</b>	6H	66	15,2	4,4	*
<b>Bmag0841</b>	3H	99	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,1	4,4	**
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>Bmag0841</b>	3H	99	15,9	2,4	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0708</b>	3H	156	16,1	8,0	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>Bmac0029</b>	3H	166	16,3	19,9	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVOLE</b>	4H	21	15,9	-	...
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0906</b>	4H	37	16,3	2,1	**
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	16,4	1,8	**
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0775</b>	4H	42	16,4	-	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0635</b>	4H	82	16,1	2,2	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,9	2,4	***
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>HVM74</b>	6H	66	15,8	-	n.s.
<b>Bmag0606</b>	3H	125	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,8	-	***
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>Bmac0029</b>	3H	166	15,5	18,1	n.s.
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>HVOLE</b>	4H	21	15,0	-	n.s.
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,6	0,7	***
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,6	0,7	***
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,8	0,7	**
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>EBmac0635</b>	4H	82	15,3	28,4	n.s.
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,2	28,4	*
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>HVM74</b>	6H	66	14,7	-	...
<b>EBmac0708</b>	3H	156	<b>Bmag0613</b>	6H	112	14,5	13,6	n.s.
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>HVOLE</b>	4H	21	15,2	-	...
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,9	-	...
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	16,0	-	...
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,9	-	...
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>EBmac0635</b>	4H	82	15,4	30,4	n.s.
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,3	20,3	n.s.

Marker-Kombination						Durchschnitts -befall der Genotypen		Signifikanz der Kombination*
SSR-Marker 1	Chromosom	Position in cM	SSR-Marker 2	Chromosom	Position in cM	Homoygot Kulturelter	Homoygot Wildelter	<i>single point analysis</i>
<b>Bmac0029</b>	3H	166	<b>HVM74</b>	6H	66	15,0	-	...
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,7	19,4	***
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,8	19,4	***
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,6	-	...
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>EBmac0635</b>	4H	82	14,9	32,5	n.s.
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>EBmac0679</b>	4H	83	14,7	32,5	n.s.
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>HVM74</b>	6H	66	14,9	9,8	**
<b>HVOLE</b>	4H	21	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,0	-	***
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,9	7,9	**
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>EBmac0775</b>	4H	42	16,1	4,3	n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,2	2,4	**
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>HVM74</b>	6H	66	15,3	9,8	n.s.
<b>EBmac0906</b>	4H	37	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,4	-	***
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	<b>EBmac0775</b>	4H	42	16,0	4,3	n.s.
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,3	2,4	***
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	<b>HVM74</b>	6H	66	15,4	9,8	n.s.
<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,5	-	***
<b>EBmac0775</b>	4H	42	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,3	-	***
<b>EBmac0775</b>	4H	42	<b>HVM74</b>	6H	66	15,4	-	...
<b>EBmac0775</b>	4H	42	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,3	-	...
<b>EBmac0635</b>	4H	82	<b>EBmac0906</b>	4H	37	15,4	-	**
<b>EBmac0635</b>	4H	82	<b>HVPDIA</b>	4H	37,9	15,5	-	**
<b>EBmac0635</b>	4H	82	<b>EBmac0775</b>	4H	42	15,5	-	**
<b>EBmac0635</b>	4H	82	<b>EBmac0679</b>	4H	83	15,3	25,0	***
<b>EBmac0635</b>	4H	82	<b>HVM74</b>	6H	66	15,1	-	n.s.
<b>EBmac0635</b>	4H	82	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,0	27,6	n.s.
<b>EBmac0679</b>	4H	83	<b>HVM74</b>	6H	66	14,9	-	*
<b>EBmac0679</b>	4H	83	<b>Bmag0613</b>	6H	112	14,8	27,6	***
<b>HVM74</b>	6H	66	<b>Bmag0613</b>	6H	112	15,2	9,8	***

\*) Irrtumswahrscheinlichkeit (Signifikanz):  $\alpha \leq 0,001$  (\*\*\*),  $\alpha \leq 0,01$  (\*\*),  $\alpha \leq 0,05$  (\*),  $\alpha = \text{n.s.}$  (nicht signifikant)



**Abb. 6.1:** verschiedene Symptome einer Infektion mit *Pyrenophora teres* an Gerstenblättern



**Abb. 6.2:** verschiedene Symptome einer Infektion mit *Pyrenophora teres* an Gerstenblättern

## 7. Literaturverzeichnis

- Abbott, D.C., Lagudah, E.S. und Brown, A.H.D.** (1995) Identification of RFLPs flanking a scald resistance gene of barley chromosome 6. *The Journal of Heredity* **86**, 152-154.
- Agrios, G. N.** (1997). *Plant Pathology. Academic Press, San Diego.*
- Al-Tikrity, M. N.** (1987). A simple technique for production of *D. teres* spores. *Trans. Br. Mycol. Soc.* **89**, 402.
- Arabi, M. I., Sarrafi, A., Barrault, G. und Albertini, L.** (1990). Inheritance of partial resistance to net blotch in barley. *Plant Breeding* **105**, 150-155.
- Bach, E., Chistensen, L., Dalgaard, L., Larsen, P. O., Olsen, C. E. und Smedergard-Petersen, V.** (1979). Structures, properties and relationship to asperigillo-marasmines of toxin produced by *Pyrenophora teres*. *Physiol. Pl. Path.* **14**, 41-46.
- Barr, A.R., Chalmers, K.J., Karakousis, A., Kretschmer J.M., Manning, S., Lance RCM, Lewis, J., Jeffries, S.P. und Langridge, P.** (1998) RFLP mapping of new cereal cyst nematode resistance locus in barley. *Plant Breeding* **117**, 185-187.
- Barr, A. R., Jefferies, S. P., Broughton, S., Chalmers, K. J., Kretschmer, J. M., Boyd, W. J. R., Collins, H. M., Roumeliotis, S., Logue, S. J., Coventry, S. J., Moody, D. B., Read, B. J., Poulsen, D., Lance, R. C. M., Platz, G. J., Park, R. F., Panozzo, J. F., Karakousis, A., Lim, P., Verbyla, A. P. und Eckermann, P. J.** (2003). Mapping and QTL analysis of the barley population Alexis x Sloop. *Australian Journal of Agricultural Research* **54**, 1117-1123.
- Barua, U.M. Chalmers, K.J., Hackett, C.A., Thomas, W.T.B., Powell, W. und Waugh, R.** (1993) Identification of RFLP markers linked to a *Rhynchosporium secalis* resistance locus in barley using near-isogenic lines and bulked segregant analysis. *Heredity* **71**, 177-184.
- Bauer, E., Weyen, J., Schiemann, A., Graner, A. und Ordon, F.** (1997) Molekular mapping of novel resistance genes against Barley Mild Mosaic Virus (BaMMV). *Theoretical Applied Genetics* **95**, 1263-1269.
- Becker, H.** (1993). Pflanzenzüchtung. *Ulmer* 75-92.
- Becker, J. und Heun, M.** (1995). Barley microsatellites: allele variation and mapping. *Plant Molecular Biology* **27**, 835-845.
- Becker, J., Vos, P., Kuiper, M., Salamini, F. und Heun, M.** (1995). Combined Mapping of Aflp and Rflp Markers in Barley. *Molecular & General Genetics* **249**, 65-73.
- Binder, A.** (2001). Lokalisation von Genen für die Vererbung des [1-3] [1-4]- $\beta$ -D-Glukangehalts bei Gerste. *Schriftenreihe des Instituts für Pflanzenbau* **Band 1**.
- Blank, B.** (2004). Integration neuer molekularer Marker in der Tm-2a-Region der Tomate. *Schriftenreihe des Instituts für Pflanzenbau* **Band 5**.

- Bockelman, H. E., Sharp, E. L. und Eslick, R. F.** (1977). Trisomic analysis of genes for resistance to scald and net blotch in several barley cultivars. *Canadian Journal of Botany* **55**, 2142-2148.
- Borovkova, I.G., Jin, Y. und Steffenson, B.J.** (1998) Chromosomal location and genetic relationship of leaf rust resistance genes *rph9* and *rph12* in barley. *Phytopathology* **88**, 76-80.
- Borovkova, I.G., Jin, Y., Steffenson, B.J., Kilian, A., Blake, T.K. und Kleinhofs, A.** (1997) Identification and mapping of a leaf rust gene in barley line Q21861. *Genome* **40**, 236-241.
- Brandl, F. und Hoffmann, G. M.** (1990). Untersuchungen zum Befallsverlauf der Netzfleckenkrankheit an Wintergerste (Erreger: *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.; Perfektstadium *Pyrenophora teres* Drechs.) und Entscheidungshilfen für Fungizidmassnahmen. *Gesunde Pflanzen* **42**, 192-202.
- Brandl, F. und Hoffmann, G. M.** (1991). Differentiation of physiological races of *D. teres* (sacc.) Shoem., pathogen of net blotch of barley. *Journal of Plant Diseases and Protection* **98**, 47-66.
- Brown, M. P., Steffenson, B. J. und Webster, R. K.** (1993). Host-Range of *Pyrenophora-Teres* F-Teres Isolates From California. *Plant Disease* **77**, 942-947.
- Buchannon, K. W. und McDonald, W. C.** (1965). Sources of resistance in barley to *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Science* **45**, 189-193.
- Börner, H.** (1997). Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz. *Ulmer* **7. Auflage**, 65-74.
- Büschges, R. Hollricher, K. Panstruga, R. Simons, G., Wolter, M., Frijters, A., von Daelen, R., von der Lee, T., Diergaarde, P., Groenendijk, J., Töpsch, S. Vos, P. Salamini, F. und Schulze-Lefert, P.** (1997) The barley Mlo gene: novel control element of plant pathogen resistance. *Cell* **88**,695-705.
- Cakir, M., Gupta, S., Platz, G. J., Ablett, G. A., Loughman, R., Emebiri, L. C., Poulsen, D., Li, C. D., Lance, R. C. M., Galwey, N. W. , Jones, M. G. K. und Appelsb, R.** (2003). Mapping and Validation of the Genes for Resistance to *Pyrenophora Teres* F. Teres in Barley (*Hordeum Vulgare* L.). *Australian Journal of Agricultural Research* **54**, 1369-1377.
- Carmona, M. A., Barreto, D. E. und Reis, E. M.** (1999). Detection, transmission and control of *Drechslera teres* in barley seed. *Seed Sci. & Technol.* **27**, 761-769.
- Cherif, M. und Harrabi, M.** (1990a). Generation mean analysis of inheritance of resistance to *Pyrenophora teres* in barley. *Plant Breeding* **105**, 69-74.
- Cherif, M. und Harrabi, M.** (1990b). Transgressive segregation for resistance to *Pyrenophora teres* in barley. *Plant Pathology* **42**, 617-621.
- Collins, N., Parl, R., Spielmeier, W., Ellis, J. und Pryor, A.J.** (2001) Resistance gene analogs in barley and their relationship to rust resistance genes. *Genome* **44**, 375-381.
- Costa, J. M., Corey, A., Hayes, P. M., Jobet, C., Kleinhofs, A., Kopisch-Obusch, A.,**



- Kramer, S. F., Kudrna, D., Li, M., Riera-Lizarazu, O., Sato, K., Szucs, P., Toojinda, T., Vales, M. J. und Wolfe, R. I.** (2001). Molecular mapping of the Oregon Wolfe Barleys: a phenotypically polymorphic doubled-haploid population. *Theoretical and Applied Genetics* **103**, 415-424.
- Cox, T. S.** (1984a). Expectations of means and genetic variance in backcross populations. *Theoretical and Applied Genetics* **68**, 35-41.
- Cox, T. S.** (1984b). Genetic variance and drift in selfed and intermated populations derived from backcrossing. *Theoretical and Applied Genetics* **68**, 183-186.
- Deimel, H. und Hoffmann, G. M.** (1998). Grundlagen der Schadwirkung der Netzfleckenkrankheit an Gerste (Erreger: *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz* **2**, 137-161.
- Douglas, G. B. und Gordon, I. L.** (1985). Quantitative genetics of net blotch resistance in barley. *New Zealand Journal of Agricultural Research* **28**, 157-164.
- Douiyssi, A., Rasmusson, D. C. und Roelfs, A. P.** (1998). Responses of Barley Cultivars and Lines to Isolates of *Pyrenophora Teres*. *Plant Disease* **82**, 316-321.
- Drechsler, C.** (1923). Some graminicolous species of *Helminthosporium*. *J. agric. Res.* **24**, 641-739.
- Drescher, A. Ivandic, V., Walther, U. und Graner, A.** (2000) High resolution mapping of the Rph16 locus in barley. In: Proceedings of the 8<sup>th</sup> International Barley Genetics Symposium. (Adelaide University, Department of Plant Science: Adelaide, S. Aust.)
- Eckstein, P.E., Krasichynska, N., Voth, D., Duncan, S., Rosnagel, B.G. und Scoles, G.J.** (2002) Development of PCR-based marker for a gene (*Un8*) conferring true loose smut resistance in barley. *Canadian Journal of Plant Pathology* **24**, 46-53.
- Edwards, M.C. und Steffenson, B.J.** (1996) Genetics and mapping of barley stripe mosaic virus resistance in barley. *Phytopathology* **86**, 184-187.
- Fischbeck, G.** (1985). Kapitel 1.3 Gerste (*Hordeum vulgare* L.). *Lehrbuch der Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Band 2 Spez. Teil* 77-97.
- Flor, H. H.** (1971). Current status of the gene-for-gene concept. *Annual Review of Phytopathology* **9**, 275-296.
- Friis, P., Olsen, C. E. und Moller, B. L.** (1991). Toxin production in *Pyrenophora teres*, the ascomycete causing the net-spot blotch disease of barley. *The Journal of Biological Chemistry* **266**, 13329-13335.
- Garvin, D.F., Brown, A.H.D., Raman, H. und Read, B.J.** (2000) Genetic mapping of barley *Rrs 14* scald resistance gene with RFLP, isozyme and seed storage protein markers. *Plant Breeding* **119**, 193-196.
- Geisler, G.** (1983). Kapitel 1.1 Getreidearten der gemäßigten Klimazonen. *Ertragsphysiologie von Kulturarten des gemäßigten Klimas* 16-68.

- Giehl, M.** (1984). Ertragsverluste durch Netzfleckenkrankheit an Gerste. *Mitt. d. Biol. Bundesanstalt f. Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem* **223**, 94.
- Le Gouis, J., Devaux, P., Werner, K., Hariri, D., Bahrman, N., Béghin, D. and Ordon, F.** (2004) *rym15* from the Japanese cultivar Chikurin Ibaraki 1 is a new barley mild mosaic virus (BaMMV) resistance gene mapped on chromosome 6H. *Theoretical and Applied Genetics* **108**, 1521-1525.
- Graner, A., Foroughi-Wehr, B. und Tekauz, A.** (1996). RFLP mapping of a gene in barley conferring resistance to net blotch (*Pyrenophora teres*). *Euphytica* **91**, 229-234.
- Graner, A. und Bauer, E.** (1993) RFLP mapping of the *ym4* virus resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics* **86**, 689-693.
- Graner, A., Bauer, E., Kellermann, A., Proeseler, G. Wenzel, G. und Ordon, F.** (1995) RFLP analysis of resistance to the barley yellow mosaic virus complex. *Agronomie* **15**, 475-479.
- Graner, A. und Tekauz, A.** (1996) RFLP mapping in barley of a dominant gene conferring resistance to scald (*Rhynchosporium secalis*). *Theoretical and Applied Genetics* **93**, 421-425.
- Graner, A. Streng, S., Kellermann, A. Schiemann, A., Bauer, E. Waugh, R., Pellio, B. und Ordon, F.** (1999) Molecular mapping and genetic fine-structure of the *rym5* locus encoding resistance to different strains of the Barley Yellow Mosaic Virus Complex. *Theoretical and Applied Genetics* **98**, 285-290.
- Gupta, S., Loughman, R., Platz, G. J. und Lance, R. C. M.** (2003). Resistance in Cultivated Barleys to *Pyrenophora Teres* F. Teres and Prospects of Its Utilisation in Marker Identification and Breeding. *Australian Journal of Agricultural Research* **54**, 1379-1386.
- Halterman, D., Zhou, F.S., Wei, F.S., Wise, R.P. und Schulze-Lefert, P.** (2001) The MLA6 coiled-coil, NBS-LRR protein confers AvrMla6-dependent resistance specificity to *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* in barley and wheat. *Plant Journal* **25**, 335-348.
- Hammerschmidt, R., Métraux, J.-P. und van Loon, L. C.** (2001). Induced resistance: a summary of papers presented at the First International Symposium on induced resistance to plant diseases, Corfu, May 2000. *European Journal of Plant Pathology* **107**, 1-6.
- Hancock, J. G. und Huisman, O. C.** (1981) Nutrient movement in host-pathogen systems. *Ann. Rev. Phytopath.* **19**, 309-331.
- Harrabi, M. und Kamel, A.** (1990). Virulence spectrum to barley in some isolates of *Pyrenophora teres* from the Mediterranean region. *Plant Diseases*. **74**, 230-232.
- Hartleb, H. und Meyer, U.** (1988). Vergleichende Untersuchungen an abgetrennten Blättern zur Bewertung der Resistenz von Gerste gegen den Erreger der Netzfleckenkrankheit *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **24**, 81-83.
- Hartleb, H. und Opel, H.** (1987). Ermittlung und Bewertung partieller Resistenz von Sommergerste gegen Mehltau mit Frühselektionsverfahren und ihre Relation zu Ergebnissen aus Feldversuchen. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **23**, 457-464.

- Heun, M., Kennedy, A. E. und Anderson, J. A.** (1991). construction of a restriction fragment length polymorphism map for barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* **34**, 437-447.
- Ho, K. M., Tekauz, A., Choo, T. M., und Martin, R. A.** (1996). Genetic studies on net blotch resistance in a barley cross. *Canadian Journal of Plant Science* 715-719.
- Hoffmann, G. M. und Schmutterer, A. H.** (1983). Parasitäre Krankheiten und Schädlinge an Landwirtschaftlichen Kulturpflanzen. *Ulmer* 51-55.
- Huang, X. Q., Cöster, H., Ganai, M. W. und Röder M.S.** (2003). Advanced backcross QTL analysis for the identification of quantitative trait loci alleles from wild relatives of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theoretical and Applied Genetics*
- Jalli, M. und Robinson, J.** (2000). Stable Resistance in Barley to *Pyrenophora Teres* F. Teres Isolates From the Nordic-Baltic Region After Increase on Standard Host Genotypes. *Euphytica* **113**, 71-77.
- Jonsson, R., Bryngelsson, T. und Gustafsson, M.** (1997). Virulence studies of Swedish net blotch isolates (*Drechslera Teres*) and identification of resistant barley lines. *Euphytica* **94**, 209-218.
- Jordan, V. W. L.** (1981). Aetiology of Barley net blotch caused by *Pyrenophora teres* and some effects on yield. *Plant Pathology* **30**, 77-87.
- Jorgensen, H. J. L., Lübeck, P. S., Thordal-Christensen, H., de Neergaard, E. und Smedegaard-Petersen, V.** (1998). Mechanisms of induced resistance in barley against *Drechslera teres*. *Phytopathology* **88**, 698-707.
- Kao, C. H., Zeng, Z. B. und Teasdale, R. D.** (1999). Multiple interval mapping for quantitative trait loci. *Genetics* **152**, 1203-1216.
- Karakousis, A., Gustafson, J. P., Chalmers, K. J., Barr, A. R. und Langridge, P.** (2003). A consensus map of barley integrating SSR, RFLP, and AFLP markers. *Australian Journal of Agricultural Research* **54**, 1173-1185.
- Kearsey, M. J. und Farquhar, A. G.** (1998). QTL analysis in plants; where are we now? *Heredity* **80**, 137-142.
- Khan, T. N.** (1971). Turkish barley varieties as a source of resistance to net blotch. *Euphytica* **20**, 292-298.
- Khan, T. N.** (1982). Changes in pathogenicity of *Drechslera teres* relating to changes in barley cultivars grown in Western Australia. *Plant Diseases* **66**, 655-656.
- Kilian, A., Chen, J., Han, F. Steffenson, B.J. und Kleinhofs, A.** (1997) Towards map-based cloning of barley stem rust resistance genes *Rpg1* and *Rpg4* using rice as an intergenomic cloning vehicle. *Plant Molecular Biology* **35**, 187-195.

- Kleinhofs, A., Kilian, A., Maroof, M. A. S., Biyashev, R. M., Hayes, P. M., Chen, F. Q., Lapitan, N., Fenwick, A., Blake, T. K., Kanazin, V., Ananiev, E., Dahleen, L., Kudrna, D., Bollinger, J., Knapp, S. J., Liu, B., Sorrells, M., Heun, M., Franckowiak, J. D., Hoffman, D., Skadsen, R. und Steffenson, B. J.** (1993). A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theoretical and Applied Genetics* **86**, 705-712.
- Kogel, K.-H., Beckhove, U., Jarosch, B., Hückelhoven, R., Schiffer, R., Beßer, K., Langen, G. und Korell, M.** (1998). Die Pflanze wehrt sich selbst - Resistenzaktivierung in Kulturpflanzen. *Spiegel der Forschung* **15. Jg./Nr. 2**, 54-61.
- Kogel, K. H. und Von Alten, H.** (2001). Induced Resistance. *Zeitschrift Fur Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **108**, 643-652.
- Kopahnke, D. und Saker, M.** (2002). Jahresbericht 2002 BAZ.
- Kosambi, D. D.** (1944). The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics* **12**, 172-175.
- Kretschmer, J.M., Chalmers, K.J., Manning, S. Karakousis, A., Barr, A.R., Islam, A.K.M.R., Logue, S.J., Choe, Y.W., Barker, S.J., Lance, R.C.M. und Langridge, P.** (1997) RFLP mapping of the *Ha2* cereal cyst nematode resistance gene in barley. *Theoretical and Applied Genetics* **94**, 1060-1064.
- Kürth, J. Kolsch, R. Simons, V. und Schulze-Lefert, P.** (2001) A high-resolution genetic map and diagnostic RFLP marker for the *Mlg* resistance locus to powdery mildew in barley. *Theoretical and Applied Genetics* **102**, 53-60.
- Leistner, H. U., Kramer, R. und Kretschmann, M.** (1995a). Cytological Characterization of *Hordeum-Vulgare* L Under the Influence of a Toxin Produced by *Drechslera-Teres* (Sacc) Shoem. *Microbiological Research* **150**, 281-289.
- Liljeroth, E., Santen, K. und Bryngelsson, T.** (2001). PR Protein Accumulation in Seminal Roots of Barley and Wheat in Response to Fungal Infection - the Importance of Cortex Senescence. *Journal of Phytopathology* **149**, 447-456.
- Liu, F., Sun, G. L., Salomon, B. und Von Bothmer, R.** (2002). Characterization of Genetic Diversity in Core Collection Accessions of Wild Barley, *Hordeum Vulgare* Ssp *Spontaneum*. *Hereditas* **136**, 67-73.
- Liu, Z. W., Biyashev, R. M. und Maroof, M. A. S.** (1996). Development of Simple Sequence Repeat Dna Markers and Their Integration Into a Barley Linkage Map. *Theoretical and Applied Genetics* **93**, 869-876.
- Mandahar, C. L. und Gard, I. D.** (1978). Effect of net blotch infection on the physiology of barley: respiration. *Indian J. Mycol. Pl. Path.* **10**, 12-16.
- Manninen, O., Kalendar, R., Robinson, J. und Schulman, A. H.** (2000). Application of Bare-1 Retrotransposon Markers to the Mapping of a Major Resistance Gene for Net Blotch in Barley. *Molecular and General Genetics* **264**, 325-334.

- Mathre, D. E.** (1997). Compendium of barley diseases. *The American Phytopathological Society second edition*, 28-31.
- McDonald, W. C.** (1967). Variability and inheritance of morphological mutants in *Pyrenophora teres*. *Phytopathology* **57**, 747-755.
- Michelmore, R. W., Paran, I. und Kesseli, R. V.** (1991). Identification of markers linked to disease-resistance genes by bulk segregant analysis: a rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **88**, 9828-9832.
- Mode, C. J. und Schaller, C. W.** (1958). Two additional factors for host resistance to net blotch in barley. *Agronomy Journal* 15-18.
- Nachtigall, M., Krämer, I. und Kopahnke, D.** (1995). Identifizierung und Charakterisierung von *Drechslera Teres* (Sacc.) Shoem. Isolaten unter Nutzung von Biologischen, Biochemischen und Molekularbiologischen Verfahren. *Arch. Phytopath. Pflanzenschutz* **30**, 119-130.
- Obst, A.** (2002). Gerstenkrankheiten: Diagnose- und Entscheidungshilfen zum Gerstenmodell Bayern. *Bayrische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau*.
- Obst, A. und Huber, G.** (1986). Wirkungslücke der quecksilberfreien Getreidebeizmittel: Helminthosporiosen. *Gesunde Pflanze* **37**, 324-331.
- Obst, A., Sachs, E., Gebhart, C., Appel, J., Beer, E., Habekuß, A., Kiewnick, L. und Zimmermann, H.** (1995). Die häufigsten Blattflecke bei Gerste. *Der Pflanzenarzt* **5**, 19-26.
- Peltonen, S.** (1999). Induced Defence Responses of Cereals to Pathogen Attack. *Agricultural and Food Science in Finland* **8**, 479-492.
- Peltonen, S., Jalli, M., Kammiovirta, K. und Karjalainen, R.** (1996). Genetic Variation in *Drechslera Teres* Populations as Indicated by Rapid Markers. *Annals of Applied Biology* **128**, 465-477.
- Pickering, R.A., Steffenson, B.J., Hill, A.M. und Borovkova, I.** (1998) Association of leaf rust and powdery mildew resistance in recombinant derived from a *Hordeum vulgare* x *Hordeum bulbosum* hybrid. *Plant Breeding* **117**, 83-84.
- Pillen, K.** (2002). Der Einsatz von DNA-Markern in der Genomforschung der Gerste unter besonderer Berücksichtigung der AB-QTL-Analyse. *Schriftenreihe des Institutes für Pflanzenbau Band 3*.
- Pillen, K., Binder, A., Kreuzkam, B., Ramsay, L., Waugh, R., Förster, J. und León, J.** (2000). Mapping new EMBL-derived barley microsatellites and their use in differentiating German barley cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* **101**, 652-660.
- Plaschke, J., Ganal, M. W. und Röder, M. S.** (1995). Detection of genetic diversity in closely related bread wheat using microsatellite markers. *Theoretical and Applied Genetics* **91**, 1001-1007.

- Raman, H., Platz, G. J., Chalmers, K. J., Raman, R., Read, B. J., Barr, A. R. und Moody, D. B.** (2003). Mapping of Genomic Regions Associated With Net Form of Net Blotch Resistance in Barley. *Australian Journal of Agricultural Research* **54**, 1359-1367.
- Ramsay, L., Macaulay, M., Degli Ivanissevich, S., MacLean, K., Cardle, L., Fuller, J., Edwards, K. J., Tuveesson, S., Morgante, M., Massari, A., Maestri, E., Marmioli, N., Sjakste, T., Ganal, M., Powell, W. und Waugh, R.** (2000). A Simple Sequence Repeat-Based Linkage Map of Barley. *Genetics* **156**, 1997-2005.
- Rau, D., Brown, A. H. D., Brubaker, C. L., Attene, G., Balmas, V., Saba, E. und Papa, R.** (2003). Population genetic structure of *Pyrenophora teres* Drechs. the causal agent of net blotch in Sardinian landraces of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **106**, 947-959.
- Reiss, E.** (2003). Defence proteins of barley: Identification of isoforms of PR-5 proteins. *BAZ Jahresbericht 2003* 66-67.
- Reiss, E. und Horstmann, C.** (2001). *Drechslera Teres*-Infected Barley (*Hordeum Vulgare* L.) Leaves Accumulate Eight Isoforms of Thaumatin-Like Proteins. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **58**, 183-188.
- Richter, K.** (1998). Die Lokalisation von Genen für die Resistenz gegen die Netzfleckenkrankheit (*Drechslera teres*) in der Gerste. *Diss. Agrarwissenschaftliche Fak. Kiel*.
- Richter, K., Schondelmaier, J. und Jung, C.** (1998). Mapping of quantitative trait loci affecting *Drechslera teres* resistance in barley with molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* **97**, 1225-1234.
- Robinson, J. und Jalli, M.** (1997). Quantitative Resistance to *Pyrenophora Teres* in Six Nordic Spring Barley Accessions. *Euphytica* **94**, 201-208.
- Röder M.S., Korzun V., Wendehake K., Plaschke J., Tixier M.-H., Leroy P. und Ganal M.W.** (1998) A microsatellite map of wheat. *Genetics* **149**, 2007-2023.
- Rothe, G. M., Welschbillig, N. und Reiss, E.** (1998). Molecular Size and Net Charge of Pathogenesis-Related Enzymes From Barley (*Hordeum Vulgare* L., V. Karat) Infected With *Drechslera Teres* F. *Teres* (Sacch.) Shoem. *Electrophoresis* **19**, 745-751.
- Rowe, J. und Reid, J.** (1979a). Some aspects of carbon relations in barley - *Helminthosporium teres* complex: I. The effects of infection upon carboxylation in vivo and in vitro. *Canadian Journal of Botany* **57**, 195-207.
- Ruiz-Roldan, M. C., Maier, F. J. und Schafer, W.** (2001). Ptk1, a Mitogen-Activated-Protein Kinase Gene, Is Required for Conidiation, Appressorium Formation, and Pathogenicity of *Pyrenophora teres* on Barley. *Molecular Plant-Microbe Interactions* **14**, 116-125.
- Russell, J., Fuller, J., Young, G., Thomas, B., Taramino, G., Macaulay, M., Waugh, R. und Powell, W.** (1997). Discriminating between barley genotypes using microsatellite markers. *Genome* **40**, 442-450.

- Genger, R.K., Brown, A.H.D., Knogge, W., Nesbitt, K. und Burdon, J.J.** (2003) Development of SCAR markers linked to a scald resistance gene derived from wild barley. *Euphytica* **134**, 149-159.
- Saccardo, P. A.** (1962). Fungi veneti novi v. mycologicae venetae. Michalia 2 (1882), 558. In: *Shoemaker, R. A., Drechslera ITO. Canadian Journal of Botany* **40**, 809-836.
- Sachs, E., Amelung, D. und Klappach, K.** (1998). Die Symptome der Netzfleckenkrankheit der Gerste, hervorgerufen durch *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem., und deren Verwechslungsmöglichkeiten. *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* **50**, 58-63.
- Saeki, K., Miyazaki, C., Hirota, N., Saito, A. und Ito, K.** (1999) RFLP mapping of BaYMV resistance gene *rym3* in barley (*Hordeum vulgare*). *Theoretical and Applied Genetics* **99**, 727-732.
- Saghai-Marouf, M. A., Soliman, K. M., Jorgensen, R. A. und Allard, R. W.** (1984). Ribosomal spacer-length polymorphisms in barley: Mendelian inheritance, chromosomal location and population dynamics. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **81**, 8014-8018.
- Schacht, J.** (1998). Beitrag zur Nutzung von Wildformen zur Verbesserung quantitativ vererbter Merkmale am Beispiel Gerste. *Schriftenreihe des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung Christian-Albrechts-Universität zu Kiel* **8**.
- Schaller, C. W.** (1955). Inheritance of resistance to net blotch of barley. *Phytopathology* **45**, 174-176.
- Schmidt, D., Röder, M.S., Dargatz, H., Wolf, N., Schweizer, G.F., Tekauz, A. und Ganai, M.W.** (2001) Construction of YAC library from barley cultivar Franka and identification of YAC-derived markers linked to the *Rh2* gene conferring resistance to Scald (*Rhynchosporium secalis*). *Genome* **44**, 1031-1040.
- Schönbeck, F., Steiner, U. und Kraska, T.** (1993). Induced Resistance - Criteria, Mechanisms, Practical Application and Estimation. *Zeitschrift Für Pflanzenkrankheiten Und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* **100**, 541-557.
- Schönfeld, M., Ragni, A., Fischbeck, G. und Jahoor, A.** (1996) RFLP mapping of three new loci for resistance genes to powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) in barley. *Theoretical and Applied Genetics* **93**, 48-56.
- Seidel, P.** (1991). Veränderungen der Aminosäurezusammensetzung von Gerstenblättern nach Inokulation mit *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker. *Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz* **27**, 377-381.
- Seidel, P.** (1992). Geographische Verbreitung, Wirtspflanzenkreis, Taxonomie und Genetik von *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker, der Erreger der Netzfleckenkrankheit der Gerste. *Arch. Phytopath. Pflanzenschutz* **28**, 29-38.
- Shoemaker, R. A.** (1959). Nomenclatur of *Drechslera* and *Bipolaris*. *Canadian Journal of Botany* **37**, 879-882.
- Shoemaker, R. A.** (1962). *Drechslera* ITO. *Canadian Journal of Botany* **40**, 809-836.

- Smedegard-Petersen, V.** (1971). *Pyrenophora teres* f. *maculata* f. nov. and *Pyrenophora teres* f. *teres* on barley in Denmark. *Royal Veterinary and Agricultural University Yearbook* 124-144; **in Seidel, S.** (1992) Geographische Verbreitung, Wirtspflanzenkreis, Taxonomie und Genetik von *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker, der Erreger der Netzfleckenkrankheit an Gerste, *Arch. Phytopath. Pflanzenschutz*, **28**: 29-38.
- Smedegard-Petersen, V.** (1977). Respiratory changes of barley leaves infected with *Pyrenophora teres* or affected by isolated toxin of the fungus. *Physiol. Pl. Path.* **10**, 215-220.
- Smedegard-Petersen, V.** (1980). Increased demand for respiratory energy of barley leaves reacting hypersensitively against *Erysiphe graminis*, *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea*. *Phytopathology Z.* **99**, 54-62.
- Staub, J.E., Serquen, F.C. und Gupta, M.** (1996). Genetic markers, map construction, and their application in plant breeding. *HortScience* **31**, 729-741.
- Steffenson, B. J., Hayes, P. M. und Kleinhofs, A.** (1996). Genetics of seedling and adult plant resistance to net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) and spot blotch (*Cochliobolus sativus*) in barley. *Theoretical and Applied Genetics* **92**, 552-558.
- Steffenson, B. J. und Webster, R. K.** (1992). Quantitative resistance to *Pyrenophora teres* f. *teres* in barley. *Phytopathology* **82**, 407-411.
- Struss, D. und Plieske, J.** (1998a). The use of microsatellite markers for detection of genetic diversity in barley populations. *Theoretical and Applied Genetics* **97**, 308-315.
- Tacconi, G., Cattivelli, L., Faccini, N., Pecchioni, N., Stanca, A.M. und Vale, G.** (2001) Identification and mapping of a new leaf stripe resistance gene in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* **102**, 1286-1291.
- Tanksley, S. D.** (1993). Mapping polygenes. *Annu Rev Genet* **27**, 205-233.
- Tekauz, A.** (1985). A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology* **7**, 181-183.
- Tekauz, A.** (1986). Effect of plant age and leaf position on the reaction of barley to *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology* **8**, 380-386.
- Utz, H. F. und Melchinger, A. E.** (1996). PLABQTL: a program for composite interval mapping of QTL. *J Quantitative Trait Loci*.
- Walther, U., Kopahnke, D., Habekuß, A., Schliephake, R. und Proeseler, G.** (1999). Aussichten der Nutzung von Wild- und Primitivformen der Gerste in der Resistenzzüchtung. *Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Institut für Epidemiologie und Resistenz* **46**, 30-44.
- Waugh, R., Macaulay, M., McLean, K., Fuller, J., Bonar, N., Ramsey, L. und Powell, W.** (1997) Development of a simple sequence repeat-based linkage map of barley. *Annual Report of the Scottish Research Institute for 1996/1997*, 82-84.



- Weiergang, I., Jorgensen, H. J. L., Moller, I. M., Friis, P. und Smedegaard-Petersen, V.** (2002). Correlation Between Sensitivity of Barley to *Pyrenophora Teres* Toxins and Susceptibility to the Fungus. *Physiological and Molecular Plant Pathology* **60**, 121-129.
- Williams, K. J., Lichon, A., Gianquitto, P., Kretschmer, J. M., Karakousis, A., Manning, S., Langridge, P. und Wallwork, H.** (1999). Identification and mapping of gene conferring resistance to the spot form of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *maculata*) in barley. *Theoretical and Applied Genetics* **99**, 323-327.
- Williams, K. J., Smyl, C., Lichon, A., Wong, K. Y. und Wallwork, H.** (2001). Development and Use of an Assay Based on the Polymerase Chain Reaction That Differentiates the Pathogens Causing Spot Form and Net Form of Net Blotch of Barley. *Australasian Plant Pathology* **30**, 37-44.
- Wu, H. L., Steffenson, B. J., Li, Y. , Oleson, A. E. und Zhong, S.** (2003). Genetic Variation for Virulence and RFLP Markers in *Pyrenophora teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne de Phytopathologie* **25**, 82-90.
- Xi, K., Burnett, P. A., Turkington, T. K., Tekauz, A. und Helm, J. H.** (1999). Determining Quantitative Resistance of Barley Cultivars at the Seedling Stage to Net Blotch Caused by *Pyrenophora Teres*. *Canadian Journal of Plant Pathology-Revue Canadienne De Phytopathologie* **21**, 284-290.
- Zacharias, A.** (2002). AB-QTL-Analyse zur Introgression von Wildformallelen in Gerste. *Schriftenreihe des Institutes für Pflanzenbau* **Band 2**.
- Zeng, Z.-B.** (1994). Precision mapping of quantitative trait loci. *Genetics* **136**, 1457-1468.

## 8. Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1: Beispiel eines Netzfleckensymptoms an BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Blättern der Kreuzung Berolina x 41923, 7 Tage nach Inokulation mit <i>D. teres</i> -Konidien.....	8
Abb. 2.1: Anlage der Kunststoffröhren in den Gewächshauswagen zur Kultivierung der Pflanzen der Testpopulation; ● bepflanzte Röhre, ○ leere Röhre. ....	19
Abb. 2.2: Darstellung der möglichen Bandenmuster bei der kodominanten Auswertung von SSR-Markern bei den Kreuzungseltern sowie innerhalb der Population der Nachkommen .....	28
Abb. 3.1: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der gesamten auf Resistenz getesteten Pflanzen der Test-population Arena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	34
Abb. 3.2: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der gesamten auf Resistenz getesteten Pflanzen der Test-population Arena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	35
Abb. 3.3: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Berolina x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	36
Abb. 3.4: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Berolina x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	36
Abb. 3.5: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Golf x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	37
Abb. 3.6: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Golf x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	38
Abb. 3.7: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Pasadena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	40
Abb. 3.8: Häufigkeitsverteilung in Befallsklassen der auf Resistenz getesteten Pflanzen der Verifikations-population Pasadena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	40
Abb. 3.9: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Testpopulation Arena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	41
Abb. 3.10: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Testpopulation Arena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	42
Abb. 3.11: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Berolina x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	43
Abb. 3.12: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Berolina x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	44
Abb. 3.13: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Golf x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	44
Abb. 3.14: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Golf x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern.....	45
Abb. 3.15: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Pasadena x 41923, 7 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern .....	45

- Abb. 3.16: Häufigkeitsverteilung des Boniturmerkmals TYP in Befallsklassen der Verifikationspopulation Pasadena x 41923, 9 dpi, mit Angabe der Mittelwerte der Eltern 46
- Abb. 3.17: Beispiel für einen Test auf Polymorphie verschiedener SSR-Markern zwischen den Eltern Arena (a) und 41923 (w); (z. B.: HVM26: keine Bindung an die DNA; HVM20: polymorph; HVM14: nicht polymorph; HVM9: Doppelbande bei Wildelter)..... 47
- Abb. 3.18 (S. 49 und 50): Lokalisation aller getesteten SSR-Markern auf dem Gersten Genom (1H bis 7H) in Anlehnung an die Karte von Ramsay et al. (2000) und Ergänzung mit Hilfe von <http://www.GrainGenes.com> (rot = polymorphe SSR-Marker zwischen Arena und 41923) ..... 49
- Abb. 3.19: QRL der Merkmale Befallsstärke (Linie mit Beschriftung Pt B..) und TYP (durchbrochene Linie mit Beschriftung Pt T..) ..... 68
- Abb. 3.20: Darstellung der acht QRL für die Resistenz gegen *P. teres* in der Population Arena x 41923, durchbrochene Linien stellen die befallsreduzierenden Kombinationen je zweier Resistenzregionen dar, welche in den Varianzanalysen signifikant erschienen (s. Tab. 3.8) ..... 69
- Abb. 4.1: QTL und QRL der Resistenz gegen *P. teres* (Netztyp) der Chromosomen 1H-3H, QRL aus der vorliegenden Arbeit der Merkmale Befallsstärke (Linie mit Beschriftung Pt B.. in Oval) und TYP (durchbrochene Linie mit Beschriftung Pt T.. in Oval); nummerierte QTL in Karo entsprechen folgenden Literaturquellen, welche mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003) in der eigenen SSR-Marker-Karte lokalisiert wurden: ..... 92
- Abb. 4.2: QTL und QRL der Resistenz gegen *P. teres* (Netztyp) der Chromosomen 4H-7H, QRL aus der vorliegenden Arbeit der Merkmale Befallsstärke (Linie mit Beschriftung Pt B.. in Oval) und TYP (durchbrochene Linie mit Beschriftung Pt T.. in Oval); nummerierte QTL in Karo entsprechen folgenden Literaturquellen, welche mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der *consensus map* von Karakousis et al. (2003) in der eigenen SSR-Marker-Karte lokalisiert wurden: ..... 93
- Abb. 6.1: verschiedene Symptome einer Infektion mit *Pyrenophora teres* an Gerstenblättern ..... 110
- Abb. 6.2: verschiedene Symptome einer Infektion mit *Pyrenophora teres* an Gerstenblättern ..... 111

## 9. Tabellenverzeichnis

Tab. 2.1: Übersicht der verwendeten Gerstensorten (Quelle: Beschreibende Sortenliste des Bundessortenamtes 1985 und 2002) sowie der Wildgerstenlinie, die als Eltern der in dieser Arbeit verwendeten Kreuzungen dienten .....	13
Tab. 2.2: Übersicht der Kreuzungen mit Angabe der Anzahl ihrer BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> - bzw. F <sub>1</sub> -Pflanzenabstammung und der jeweiligen Anzahl der ausgesäten sowie der resistenzgetesteten Körner .....	14
Tab. 2.3: Übersicht der Auswahl an <i>Drechslera teres</i> -Einspor-Isolaten und ihre Herkunft ....	14
Tab. 3.1: durchschnittliche histologische Eigenschaften der <i>P. teres</i> -Isolate auf den verschiedenen Nährmedien (s. Kap. 2.2.1) sowie Aggressivitätsverhalten gegenüber der Wirtspflanze .....	32
Tab. 3.2: Kennwerte der Chromosomen der Marker-Karte der auf Polymorphie getesteten SSR-Marker mit bekanntem Locus in Anlehnung an Ramsey et al. (2000) .....	48
Tab. 3.3: Liste der hoch signifikanten SSR-Marker der <i>single point</i> QRL-Analyse der beiden Extrema-Gruppen der Testpopulation.....	51
Tab. 3.4: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> der gesamten Arena-Population .....	52
Tab. 3.5: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> über die gesamte Arena-Population, Marker mit Durchschnittswerten des homozygoten Wildeltermotyps unter 10 % sind grau unterlegt (vergl. Tab. 3.6) .....	53
Tab. 3.6: Ergebnisse der durchschnittlichen Befallsstärke (%) der <i>single point analysis</i> über die gesamte Arena-Population mit nicht transformierten Daten, Mittelwertvergleich der Genotypen über Kontrast-Analyse, Marker mit Durchschnittswerten des homozygoten Wildeltermotyps unter 10 % sind grau unterlegt.....	54
Tab. 3.7: Signifikanzen der <i>single point</i> , <i>combined analysis</i> sowie <i>Random analysis</i> über die gesamte Testpopulation, Marker mit Durchschnittswerten des homozygoten Wildeltermotyps unter 10 % sind grau unterlegt (vergl. Tab. 3.6) .....	56
Tab. 3.8: Kombinationen zweier Marker-Loci in der gesamten Arena-Population mit Befallsstärken (%) der homozygoten Wildeltermotypen unter 5 % .....	58
Tab. 3.9: In den Verifikationspopulationen eingesetzte SSR-Marker .....	59
Tab. 3.10: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> und Mittelwerte der Befallsstärke (%) der homozygoten Kultur- und Wildeltermotypen sowie des jeweiligen heterozygoten Genotyps der Berolina-Population.....	60
Tab. 3.11: Ergebnisse der <i>combined analysis</i> der Berolina-Population.....	61
Tab. 3.12: Interaktionen der Berolina-Population mit Angabe deren mittleren Befallsstärken (%) der homozygoten Kultur- bzw. Wildeltermotypkombinationen .....	61
Tab. 3.13: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> und Mittelwerte der Befallsstärke (%) der homozygoten Kultur- und Wildeltermotypen sowie des jeweiligen heterozygoten Genotyps der Golf-Population .....	62
Tab. 3.14: Ergebnisse der <i>combined analysis</i> der Golf-Population .....	62
Tab. 3.15: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> der Pasadena-Population .....	63
Tab. 3.16: Ergebnisse der <i>combined analysis</i> der Pasadena-Population.....	64

Tab. 3.17: Interaktionen der Pasadena-Population mit Angabe deren mittleren Befallsstärken (%) der homozygoten Kultur- bzw. Wildeltermotypkombinationen .....	64
Tab. 3.18: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> der beiden Extrema-Gruppen der Testpopulation hinsichtlich des Merkmals TYP und dem Vergleich der Signifikanzen der Befallsstärke (S. 65-66) .....	65
Tab. 4.1: Datenzusammenstellung zur Lokalisation von HVDPIA durch Vergleich mit EBMac0906 und EBMac0775 .....	80
Tab. 4.2: BC <sub>2</sub> F <sub>2</sub> -Pflanzen der Testpopulation mit nachgewiesenen befallsreduzierenden Interaktionen .....	82
Tab. 4.3: Vergleich der eigenen QRL mit Resistenzgenen verschiedener Krankheiten an Gerste, Einordnung mit Hilfe der Bin-Map von Kleinhofs et al. (1993) und der <i>consensus map</i> von (Karakousis et al. 2003) .....	97
Tab. 6.1: Ergebnisse der <i>single point analysis</i> der beiden Extrema-Gruppen der Testpopulation (30 % der Arena-Population) zur Identifikation putativer mit der Resistenz gegen <i>P. teres</i> gekoppelten SSR-Markern; Angabe des Vorliegen einer Allelfrequenzänderung an den hoch signifikanten Loci (S. 102-104) .....	104
Tab. 6.2: Ergebnisse aller möglichen Interaktionen aus der <i>single point analysis</i> der SSR-Marker über die gesamte Testpopulation (S. 106-109) .....	106

## 10. Abkürzungsverzeichnis

Abkürzung	Bedeutung	Erläuterung oder deutsche Übersetzung
AFLP	„Amplified fragment length polymorphism“	PCR-amplifizierter Fragmentlängenpolymorphismus (DNA-Marker)
ANOVA	„Analysis of variance“	Varianzanalyse
BAZ	<i>Bundesanstalt für Züchtungsforschung</i>	Sitz in Aschersleben
BBA	<i>Biologische Bundesanstalt</i>	Sitz in Braunschweig
bp	„Base pairs“	Basenpaare
bzw.		beziehungsweise
cM	<i>centi Morgan</i>	Maßeinheit der genetischen Distanz
ca.		circa
DH	„Doubled haploid“	Doppelhaploide (homozygot diploide) Linie
DNA	„Deoxyribonucleic acid“	Desoxyribonukleinsäure
dpi	<i>Days post inoculation</i>	Anzahl der Tage nach der Inokulation
EST	„Expressed sequence tag“	cDNA-Sequenz eines exprimierten Gens
F <sub>i</sub>	„i-th filial generation“	i-te Filialgeneration
kb	„Kilobase pairs“	Kilobasenpaare
PCR	„Polymerase chain reaction“	Polymerasekettenreaktion
QRL	„Quantitative resistance locus“	Genetischer Locus für ein Resistenz-Merkmal
QTL	„Quantitative trait locus“	Genetischer Locus für ein quantitatives Merkmal
RAPD	„Random amplified polymorphic DNA“	Zufällig amplifizierte polymorphe DNA (DNA-Marker)
RFLP	„Restriction fragment length polymorphism“	Restriktionsfragmentlängenpolymorphismus (DNA-Marker)
s.o.		siehe oben
s.u.		siehe unten
SNP	„Single nucleotide polymorphism“	Einzelnukleotid-Polymorphismus (DNA-Marker)
STS	„Sequence tagged site“	DNA-sequenzdefinierte Stelle (DNA-Marker)

## Danksagung

Herrn Prof. Dr. J. Léon möchte ich für die Überlassung des Themas, sein reges Interesse an dieser Arbeit und für seine Unterstützung bei statistischen Lösungen bedanken. Vor allem jedoch hatte/hat Herr Prof. Dr. J. Léon für uns Doktoranden stets ein offenes Ohr.

Bei Herrn Prof. Dr. H.-W. Dehne bedanke ich mich für die Übernahme des Koreferates und die Unterstützung dieser Arbeit mit der Genehmigung zur Benutzung des Binokulars seines Institutes.

Herr Prof. Dr. Scherer hat mir mit seiner spontanen Zusage für den Vorsitz eine große Freude gemacht, für die ich ihm an dieser Stelle danken möchte.

Frau Dr. E. Sachs und Frau Dr. D. Kophanke danke ich für die Überlassung der *P. teres*-Isolate sowie Frau Dr. D. Kophanke und ihren Mitarbeitern für die hilfsbereite Einführung in die Methode der *in vitro* Resistenztestung.

PD Dr. H. Hindorf möchte ich für die vielen Anregungen und Tipps auf dem Gebiet der Mykologie bedanken.

Herrn Bungard mit Kollegen sowie der Saatzucht Streng's Erben danke ich für die perfekte Anlage und Betreuung der Feldversuche. Leider war eine sichere Auswertung dieser Versuche bei der niedrigen Infektionsrate, bedingt durch das trockene Frühjahr, nicht möglich.

Mein Dank gilt zudem „meinen“ LTA-Schülern Anke, Nina, Sarah und Nikolas sowie meiner SHK Susanne, welche ihren Teil zum Gelingen der Arbeit beigetragen haben. Insbesondere möchte ich mich bei Britta für ihre unermüdliche Unterstützung bedanken.

Bei Karola Müller bedanke ich mich, dass sie mir in der letzten Arbeitsphase im Labor tatkräftig zur Seite stand. Dr. Birgit Blank und PD Dr. Klaus Pillen möchte ich für viele fachliche Anregungen und Hilfestellungen danken. Gisela Mebus danke ich für ihre generelle Hilfsbereitschaft, insbesondere für die kompetente Urlaubsbetreuung meiner Gerstenpflanzen. Stellvertretend für alle Kollegen danke ich Huanjun und Maria für die Zusammenarbeit im Institut sowie Thomas für die Erstellung eines Mini-Programms zur Transformation von übergroßen Exel-Tabellen.

Mein Dank geht insbesondere an meine Freunde und Korrekturleser für alle interessanten Anmerkungen, Kritiken und Diskussionen sowie Er- und Aufmunterungen. Bei Michaela, Khalaf und Bille möchte ich mich an dieser Stelle ganz besonders bedanken.

Zum guten Schluß bedanke ich von Herzen bei meinen Eltern und Großeltern für ihre vielfältige und, wie sie sagen, selbstverständliche Unterstützung.

Diese Arbeit wurde von der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) gefördert.