

Albrecht Serfling<sup>1,2</sup>, Ilona Krämer<sup>1</sup>, Dragan Perovic<sup>1</sup>, Frank Ordon<sup>1</sup>

## Erweiterung der genetischen Basis der Resistenz des Weizens (*Triticum aestivum*) gegen Braunrost (*Puccinia triticina* f. sp. *tritici*)

Broadening the genetic base of leaf rust (*Puccinia triticina* f. sp. *tritici*) resistance in wheat (*Triticum aestivum*)

262

### Zusammenfassung

Braunrost (*Puccinia triticina* f. sp. *tritici*) ist von weltweiter Bedeutung und führt beim Anbau anfälliger Sorten zu Ertragsverlusten bis zu 60%. Die kostengünstigste und umweltfreundlichste Art diese zu vermeiden, ist der Anbau resistenter Sorten. Um zunächst Informationen über die Nutzbarkeit von Braunrostresistenzgenen in Deutschland zu gewinnen, wurden nahe isogene Linien (NILs) mit unterschiedlichen Braunrostresistenzgenen (*Lr*), untersucht. Dabei konnte für die Resistenzgene *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr15*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr26*, und *Lr37* in Feldversuchen das Vorkommen und die Entwicklung virulenter Isolate innerhalb der Braunrostpopulation nachgewiesen werden, so dass nur noch wenige voll wirksame Resistenzgene zur Verbreiterung der genetischen Basis der Braunrostresistenz im Winterweizensortiment zur Verfügung stehen, z.B. *Lr9* oder *Lr24*. Im Rahmen der Evaluierung und Nutzbarmachung pflanzen-genetischer Ressourcen konnte jedoch in Einkorn (*Triticum monococcum*) rassenunspezifische, prähaustorielle Resistenz gegenüber Braunrost nachgewiesen werden. Weitergehende Analysen zeigten, dass diese mit erhöhter Peroxidaseaktivität und Aktivität des abwehrrelevanten Gens *Pr1* in Verbindung steht sowie mit einer beschleunigten Anreicherung von phenolischen Substanzen, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sowie Lignin und auf diese Weise die Bildung von Haustorienmutterzellen deutlich verringert bzw. unterbunden

wird. Um diese Resistenz beschleunigt in den Brotweizen (*Triticum aestivum*) zu übertragen, wurde eine genetische Karte mit einer Größe von 680,6 cM bestehend aus 371 Markern erstellt, welche gemeinsam mit der momentan laufenden Phänotypisierung entsprechend segregierender F<sub>2</sub>/F<sub>3</sub>-Generationen die Identifikation von Quantitative trait loci (QTL) für die prähaustorielle Resistenz im Einkorngenom ermöglicht und damit die markergestützte Übertragung dieser horizontal wirksamen Resistenz in den Brotweizen.

**Stichwörter:** Weizen, *Puccinia triticina*, *Triticum monococcum*, Braunrostresistenz, Pre-Breeding

### Abstract

Leaf rust (*Puccinia triticina* f. sp. *tritici*) causing yield losses up to 60% in susceptible cultivars is of worldwide importance. The most cost efficient and environmental sound way to avoid these losses is growing of resistant cultivars. In order to get information on the usability of leaf rust resistance genes (*Lr*-genes) in Germany, near isogenic lines (NILs) carrying different resistance genes were investigated. Virulent isolates were detected on NILs carrying the *Lr*-genes *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr15*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr26*, and *Lr37* in field trials. In summary only very few *Lr*-genes (i.e. *Lr9* and

### Institut

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Quedlinburg<sup>1</sup>

Interdisziplinäres Zentrum für Nutzpflanzenforschung (IZN), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Halle (Saale)<sup>2</sup>

### Kontaktanschrift

Dr. Albrecht Serfling, Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, E-Mail: albrecht.serfling@jki.bund.de, Interdisziplinäres Zentrum für Nutzpflanzenforschung (IZN), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Hoher Weg 8, 06120 Halle (Saale)

### Zur Veröffentlichung angenommen

2. Mai 2013

*Lr24*) showing complete resistance are available in order to broaden the genetic base of leaf rust resistance in wheat in Germany. However, the evaluation of genetic resources led to the detection of a race non-specific pre-haustorial resistance in Einkorn wheat (*Triticum monococcum*). In detailed molecular and microscopic analyses an increased peroxidase activity and expression of the pathogenesis related gene 1 (*Pr1*) was detected in the resistant Einkorn accession. Furthermore, by microscopic analyses a decrease or complete inhibition, respectively of haustorial mother cell development was shown as well as the fast accumulation of hydrogen peroxide, phenolic substances and lignin. In order to get information on the genetics of this resistance a molecular map of 680.6 cM comprising 371 markers has been developed. Phenotyping of the F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> is in progress and will lead to the identification of QTL facilitating a marker based transfer of this horizontal resistance into *T. aestivum*.

**Key words:** Wheat, *Puccinia triticina*, *Triticum monococcum*, Leaf rust resistance, Pre-breeding

### Einleitung

Der Weizen (*Triticum aestivum*) wird von einer Vielzahl pilzlicher Krankheitserreger befallen. Unter diesen ist *Puccinia triticina*, der Erreger des Braunrostes, aufgrund von Ertragsverlusten bis zu 60% (BANCAL et al., 2007) beim Anbau anfälliger Sorten von besonderer Bedeutung, da er im Gegensatz zu anderen Pathogenen, wie z.B. *Fusarium spec.*, i.d.R. in jedem Jahr großflächig auftritt. Braunrostresistente Sorten stellen die kostengünstigste sowie umwelt- und verbraucherfreundlichste Möglichkeit dar, erhebliche Ertragsverluste durch dieses Pathogen zu vermeiden (SMALE et al., 1998). Mit der großflächigen Nutzung resistenter Weizensorten kommt es jedoch häufig zum Zusammenbruch entsprechender Resistenzen, da diese meist auf rassenspezifischen Resistenzgenen beruhen, die zu vollständiger Resistenz gegenüber Braunrost führen, bis sich in der Braunrostpopulation neue, die Resistenz überwindende Rassen, durchsetzen (GOYEAU et al., 2006; McDONALD und LINDE, 2002). In Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass zwar mehr als 60 *Lr*-Gene bekannt sind, jedoch nur die Resistenzgene *Lr1*, *L3*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr17b*, *Lr20*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr34*, und *Lr37* (GOYEAU und LANNOU, 2011; GOYEAU et al., 2006; SERFLING et al., 2011a) in europäischen Sorten einzeln bzw. in Kombination genutzt werden. Die Wirkung dieser Resistenzgene folgt der Gen-für-Genhypothese (FLOR, 1956) und ist daher i.d.R. auf bestimmte Rassen (Pathotypen) innerhalb der Braunrostpopulation beschränkt. Der Zusammenbruch von häufig genutzten Resistenzen führte in der Vergangenheit weltweit zu Braunrostepidemien (DUBIN und BRENNAN, 2009). Daher ist eine Erfassung der Virulenz in Braunrostpopulationen in Feldversuchen, z.B. mit nahe isogenen Linien (NILs), die verschiedene definierte *Lr*-Gene tragen, erforderlich, um die Entwicklung virulenter Isolate gegenüber

den momentan genutzten Resistenzen in Weizensorten frühzeitig nachzuweisen, bzw. Informationen darüber zu gewinnen, welche *Lr*-Gene noch wirksam sind. Unter Nutzung letzterer in der Weizenzüchtung kann die epidemische Ausbreitung neuer Virulenzen verhindert werden. Dies führt jedoch zu einem erneuten Wettlauf zwischen dem Erreger (Virulenz) und dem Wirt (Resistenz).

Um dauerhaft wirksame Resistenzen zu identifizieren, wurden daher Wildformen des Weizens wie beispielsweise *T. monococcum*-Akzessionen im Hinblick auf ihre Braunrostresistenz untersucht. Im Rahmen dieser Arbeiten wurde in *T. monococcum* rassenspezifische Resistenz gegenüber Braunrost nachgewiesen (ANKER und NIKS, 2001). Diese ist gegenüber allen bekannten Braunrostisolaten wirksam, jedoch liegen bisher keine detaillierten Erkenntnisse über die Wirkungsweise und die Genetik dieser Resistenz vor. Um die Braunrostresistenz im Weizen auf eine breitere Basis zu stellen, war es daher das Ziel (i) detaillierte Erkenntnisse über die in der Braunrostpopulation vorkommenden Virulenzen zu gewinnen und (ii) basierend auf diesen Daten noch wirksame *Lr*-Gene zu identifizieren sowie (iii) die rassenspezifische Braunrostresistenz aus *T. monococcum* auf mikroskopischer und molekularer Ebene näher zu charakterisieren, und damit die Voraussetzungen zu schaffen, im Rahmen von Pre-Breeding Aktivitäten eine dauerhaftere Braunrostresistenz in den Brotweizen (*Triticum aestivum*) zu übertragen.

### Material und Methoden

#### Untersuchung der Virulenzentwicklung innerhalb der Braunrostpopulation

Für die Erfassung der Virulenzentwicklung wurden 2012 in Quedlinburg (Sachsen-Anhalt, Deutschland, 125 m NN, 51 °771438` zu 51 °769327` nördlicher Breite und von 11 °143141` zu 11 °149685` östlicher Länge) Versuche mit nahe isogenen Linien (NILs) angelegt. Der Versuchsstandort liegt im Bereich der Magdeburger Börde, einem Hauptanbaugebiet des Weizens (FREIER et al., 2007). Das langjährige Temperaturmittel, gemessen von 1980 bis 2010 beträgt 8,9°C, die jährliche Niederschlagssumme 497 mm. Der Boden besteht aus lehmigem Löss mit einer Bodenwertzahl von 90 bis 95 nach ROTHKEGEL (1950). Die Anlage erfolgte vollständig randomisiert in vier Wiederholungen in Parzellen mit der Größe 1,2 m × 0,9 m. Im Versuch erfolgte der Anbau der Thatcher NILs und Akzessionen mit folgenden *Lr*-Genen: *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr9*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17b*, *Lr18*, *Lr19*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr23*, *Lr24*, *Lr25*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr29*, *Lr30*, *Lr32*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr38*, *Lr44*, *Lr46*, *Lr48*, *Lr49*, *LrT3*, und *Lr52*. Die Sorte Thatcher diente als anfällige Kontrolle. Von einzelnen der Thatcher NILs wurden Einzelsporisolate gewonnen, um einen Einblick in die Virulenz der Braunrostpopulation zu gewinnen. Diese Einzelsporisolate wurden anschließend in Blattsegmenttests auf ihre Virulenz gegenüber unterschiedlichen Resistenzgenen geprüft.

### Untersuchung der Braunrostresistenz aus *T. monococcum*

**Phänotypisierung.** Die Untersuchungen wurden an der Akzession *T. monococcum* var. *hornemanni* 7038 (resistent) und der Akzession *Triticum boeoticum* ssp. *thaouidar* var. *reuteri* 36554 (Synonym: Angora, anfällig, LIND, 2003, Genbank der Bundesanstalt für Züchtungsforschung, jetzt Genbank des IPK Gatersleben) durchgeführt. Pflanzen wurden im Gewächshaus mit einer Lichtintensität von  $300 \pm 15 \mu\text{mol}$  (auf Höhe der angezogenen Pflanzen) kultiviert. Jeweils 10 Pflanzen der Akzessionen 7038 und 36554 sowie jeweils 20  $F_2$ - bzw.  $F_3$ -Pflanzen wurden bzw. werden in Plexiglasboxen (37 cm Breite, 39 cm Länge) in Erde (Archut-Fruhstorfer Erde, HAWITA, Oldenburg) bei einer Luftfeuchte von  $80\% \pm 10\%$  und einer Temperatur von  $20^\circ\text{C} \pm 2^\circ\text{C}$  kultiviert (ATIENZA et al., 2004). Die Boxen wurden randomisiert und ihre Position einmal täglich gewechselt. 10 Tage nach der Keimung wurden die Eltern mit Hilfe eines Infektionsturms (HOOGKAMP et al., 1998) mit den Braunrostisolaten 77WxR, 167WxR, 58WxR, Tommi1, HK1990, 12/3-01 und 4/6-05 inokuliert, während die  $F_2$ - bzw.  $F_3$ -Pflanzen mit 77WxR inokuliert werden. Für die Inokulationen wurden je Box 2 mg Uredosporen der *Puccinia triticina* f. sp. *tritici* Einzelsporidiate verwendet. Für mikroskopische Untersuchungen und Expressionsanalysen wurde das Einzelsporidiat 77WxR verwendet. Dieses weist Virulenz gegenüber bekannten Resistenzgenen wie beispielsweise *Lr10*, *Lr11*, *Lr17a*, *Lr17b*, *Lr20*, *Lr28*, *Lr37*, *Lr47* und *Lr49* auf, die auf dem A-Genom des Weizens lokalisiert sind und daher möglicherweise im Genom von *T. monococcum* zu finden sind. Um den horizontalen Charakter der Resistenz in der Akzession 7038 nachzuweisen, wurden die obengenannten weiteren sechs aggressiven Isolate mit Virulenz gegenüber allen bekannten auf dem A-Genom des Weizens lokalisierten *Lr*-Genen verwendet.

**Mikroskopische Analysen.** Für die mikroskopischen Analysen wurde das Mikroskop Axioskop 50 und für die bildliche Darstellung und Auswertung die Kamera AxioCam MRc in Verbindung mit dem Softwarepaket Axiovision 4 (Carl Zeiss AG, Oberkochen) verwendet. Calcofluor white und Diaminobenzidin wurden über die Sigma-Aldrich Chemie GmbH, Taufkirchen bezogen.

Die Akkumulation von  $\text{H}_2\text{O}_2$  wurde mit 3,3'-Diaminobenzidin (DAB) nachgewiesen, die Färbung pilzlicher Strukturen zur Beobachtung des Infektionsverlaufs wurde mit dem Fluoreszenzfarbstoff Calcofluor white nach SCHÄFER et al. (2004) durchgeführt. Die DAB Färbung erfolgte mit Blattsegmenten von 1,5 cm Länge. Diese wurden 16 h in Reaktionsgefäßen in der DAB Lösung ( $1 \text{ mg ml}^{-1}$  DAB in  $\text{H}_2\text{O}$ , pH-Wert 3,8 eingestellt mit HCl) inkubiert. Diese Blattsegmente wurden anschließend für die Färbeprozedur mit Calcofluor white nach SCHÄFER et al. (2004) eingesetzt. Ligninakkumulation um die Infektionsstellen waren als klare autofluoreszierende Strukturen (HÜCKELHOVEN und KOGEL, 2003) sichtbar. Die Anzahl ausgebildeter Haustorienmutterzellen von fünf Infektionsstellen der Akzessionen 7038 und 36554 sowie von

91  $F_2$ -Nachkommen und jeweils 10  $F_3$ -Pflanzen pro  $F_2$ -Pflanze wurden bzw. werden 72 h nach der Inokulation mit Braunrost erfasst.

**Realtime PCR-Analysen.** Um Veränderungen der Expression abwehrrelevanter Gene zu verschiedenen Zeitpunkten nach der Inokulation mit Braunrost in Akzession 7038 und 36554 zu analysieren, wurde 0 h, 6 h, 12 h, 18 h und 24 h nach der Inokulation sowie bei Kontrollpflanzen RNA aus dem zweitjüngsten Blatt mit Hilfe eines NucleoSpin® RNA Plant Kits (Macherey-Nagel GmbH & Co. KG, Düren) entsprechend der Anleitung isoliert. Die Integrität der RNA wurde mittels Gelelektrophorese überprüft und die isolierte RNA Menge photometrisch quantifiziert. Die Amplifikation erfolgte in einem Applied Biosystems 7500 Fast Real-Time PCR System (Applied Biosystems Deutschland GmbH, Darmstadt) unter Nutzung des „GoTaq® 1-Step RT-qPCR System“ (Promega GmbH, Mannheim). Die Auswertung der Real-Time-Analysen wurde nach der  $\Delta\Delta\text{Ct}$ -Methode (LIVAK und SCHMITTGEN, 2001) durchgeführt. Für die Real-Time Analysen wurden die Primer für das Peroxidase 1 Gen [Pox1for: AGATCTTGAGCTGGCATTTCAG; Pox1rev: TCGTTGTTGAACAGCA-CCTG, (LIU et al., 2005)], für das Gen PR1a [Pr1for: GGAGAACATCTACGGAGGC; Pr1rev: GGGTTGTAGCTGC-AGATGAT (LIU et al., 2005)] und das Standardgen GAPDH [GAPDHfor: ATGCTCCCATGTTTGTCTGT; GAPDHrev AACAGTCTTCTGGGTT GCAG (KILIAN et al., 2007)] mit Hilfe des Programms „primer-blast“ (UNTERGASSER et al., 2012) abgeleitet.

**Genotypisierung.** Genomische DNA wurde mit Hilfe der CTAB-Methode (STEIN et al., 2001) von 91  $F_2$  Pflanzen und den Kreuzungseltern extrahiert. Für die molekularen Analysen wurden SSR- (Single Sequence Repeat, RÖDER et al., 1998; SOURDILLE et al., 2004; SOMERS et al., 2004; SONG et al., 2005), AFLP- (Amplified Fragment Length Polymorphism, Vos et al., 1995) und DaRT- (Diversity Arrays Technology, Triticarte, Yarralumla, Australien, JING et al., 2009) Marker genutzt. SSR-Marker wurden mittels Kapillarelektrophorese mit Hilfe des CEQ8000 Genetic Analysis Systems (Beckman Coulter GmbH, Krefeld) erfasst. Für AFLP Analysen wurde ein LI-COR 4300 DNA-Analyser (LI-COR GmbH, Bad Homburg) genutzt. Insgesamt wurden 401 polymorphe Marker für die Genotypisierung der  $F_2$ -Population verwendet. Die genetische Karte wurde mit Hilfe von JoinMap 4.0 (VAN OOLJEN, 2002) mit einem LOD-Wert von 3.0 und mit Hilfe der Haldane Kartierungsfunktion erstellt.

### Statistische Auswertung

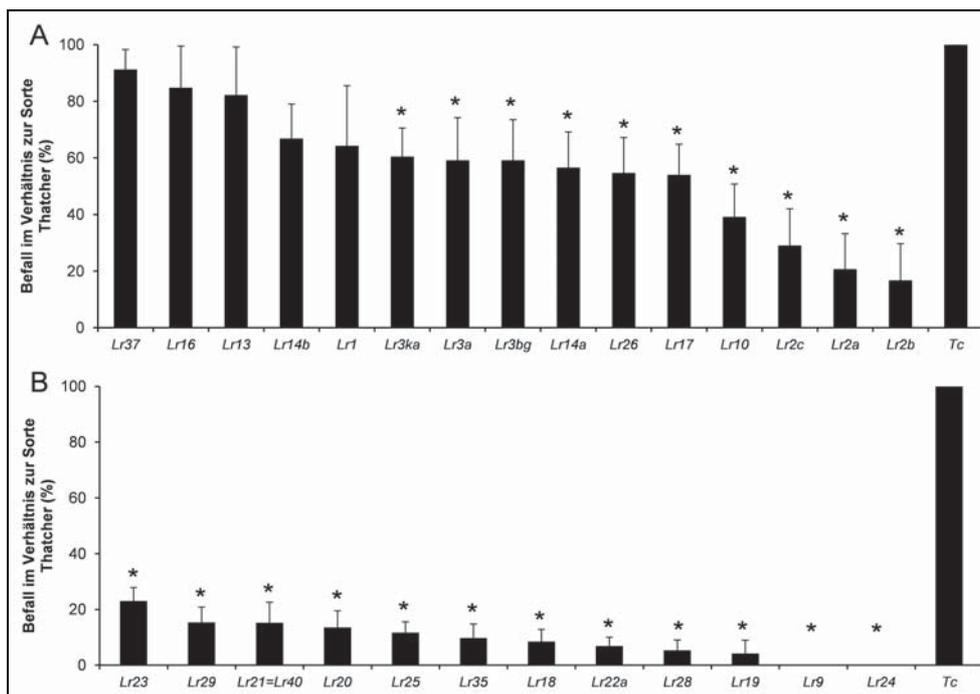
Statistische Analysen wurden mit dem Softwarepaket SAS (Version 9.3, SAS Institute, Cary, NC, USA) durchgeführt. Varianzanalysen und der Tukey-Test wurden genutzt, um in den Feldversuchen signifikante Unterschiede in der Braunrostanfälligkeit der Sorten und zwischen der Akzession 7038 und 36554 Unterschiede in der pilzlichen Entwicklung (Anzahl Haustorienmutterzellen) zu ermitteln.

## Ergebnisse

### Virulenzanalyse der Braunrostpopulation

Die Bonitur der nahe isogenen Linien der Sorte Thatcher zeigte, dass ein erheblicher Teil der in deutschen Sorten genutzten Resistenzgene gegen die vorhandene Rostpopulation in EC-Stadium 60 (Blüte) nicht hinreichend wirksam ist. Beispielsweise wiesen Thatcher NILs mit den Resistenzgenen *Lr1*, *Lr13*, *Lr14b*, *Lr16* und *Lr37* Befallswerte zwischen 64,1 und 91,0% im Vergleich zur anfälligen Sorte Thatcher, deren Befall zur besseren Vergleichbarkeit mit 100% dargestellt ist (absoluter Befall  $41,5 \pm 8,1\%$ ), auf (Abb. 1A). Einen signifikant niedrigeren Befall wiesen zu EC60 Thatcher NILs mit den Resistenzen *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3a*, *Lr3bg*, *Lr3ka*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr17* und *Lr26* auf. Trotz der signifikanten Befallsunterschiede führte keines dieser Resistenzgene zu Befallsfreiheit, es wurde ein Befall von 16,6% (Thatcher NIL mit *Lr2b*) bis zu 60,3% (Thatcher NIL mit *Lr3ka*) beobachtet. Deutliche Unterschiede zwischen der Sorte Thatcher und Thatcher NILs traten auf, wenn diese Braunrostresistenzen enthielten, die in kommerziellen Sorten bisher keine Anwendung finden. Thatcher NILs mit den Resistenzgenen *Lr23*, *Lr29*, *Lr21 = Lr40*, *Lr20*, *Lr25*, *Lr35*, *Lr18*, *Lr22a*, *Lr28*, *Lr19*, *Lr9* und *Lr24* (Aufzählung nach prozentualem Befall im Vergleich zur Sorte Thatcher) wiesen mit weniger als 23,1% (*Lr23*) immer einen signifikant geringeren Befall als die Sorte Thatcher auf. Nur zwei dieser Resistenzgene führten jedoch zu qualitativer Befallsfreiheit (*Lr9* und *Lr24*), alle anderen getesteten Resistenzen wiesen mindestens 4,3% (*Lr19*) des bei der Sorte Thatcher beobachteten Befalls auf (Abb. 1B). Die Ergebnisse zeigen, dass gegen einen Großteil der Braunrostresistenzen unabhängig von der Nutzung in Sorten

virulente Isolate innerhalb der Braunrostpopulation vorhanden sind. Nachweisbar ist dies mit Einzelsporisolen, die von der Sorte Thatcher, der Thatcher NIL-*Lr1*, NIL-*Lr3a*, NIL-*Lr9*, NIL-*Lr10*, NIL-*Lr13*, NIL-*Lr14a*, NIL-*Lr16*, NIL-*Lr17*, NIL-*Lr26*, NIL-*Lr34* und NIL-*Lr37* isoliert wurden. Diese Isolate wiesen unterschiedliche Virulenzmuster auf, allen gemeinsam war jedoch die Virulenz gegenüber *Lr1*, *Lr10*, *Lr11*, *Lr12*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr14b*, *Lr15*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr21*, *Lr22a*, *Lr22b*, *Lr27*, *Lr33*, *Lr34*, *Lr35*, *Lr37*, *Lr44*, *Lr48* und *Lr49*. Einzelne Isolate, wie das von der Thatcher NIL mit *Lr17* gewonnene Isolat, wiesen neben sehr komplexen Virulenzmustern auch Virulenz gegenüber *Lr24* auf (Tab. 1). Das Vorhandensein von Isolat mit bestimmten Virulenzen und deren vermehrtes Auftreten innerhalb der Braunrostpopulation konnte auch an Hand der beschreibenden Sortenliste nachgewiesen werden. In den Sorten Tommi, Manager und Türkis ist *Lr37* gemeinsam mit nicht wirksamen Resistenzen oder einzeln enthalten. Betrachtet man die Beschreibende Sortenliste des Bundessortenamtes, ist an Hand der Einstufung der Sorten mit dieser Resistenz festzustellen, dass sich gegenüber *Lr37* virulente Isolate innerhalb der Jahre 2005–2007 durchsetzen konnten (Tab. 2). Die Resistenz *Lr37* ist in einem Großteil der in Deutschland zugelassenen Sorten zu finden und konnte mit spezifischen molekularen Markern in 48 von 115 Sorten der beschreibenden Sortenliste nachgewiesen werden (SERFLING et al., 2011a). Der hohe Flächenanteil von Sorten mit diesem Resistenzgen führte zur Selektion virulenter Isolate und damit ab dem Jahr 2006 zu Befallswerten der im Feldversuch untersuchten Thatcher NIL mit *Lr37*, die der anfälligen Sorte Thatcher entsprach. (Abb. 2). Dagegen weisen Sorten, die mehrere Resistenzgene tragen, eine dauerhaft geringere Anfälligkeit auf. Solche Sorten mit



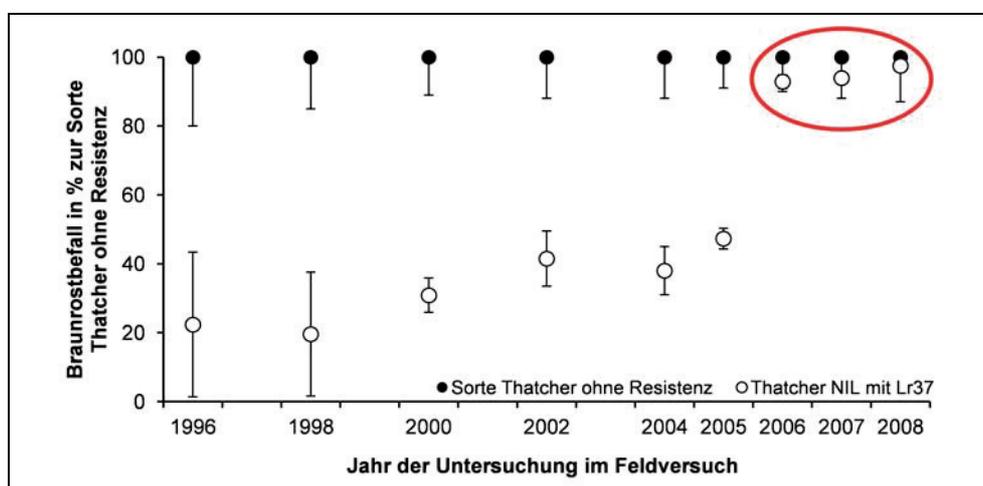
**Abb. 1.** Prozentualer Braunrostbefall (%) von nahe isogenen Thatcher-Linien mit verschiedenen *Lr*-Genen, im Vergleich zur anfälligen Sorte Thatcher im Feldversuch am Standort Quedlinburg (2012) zum Boniturzeitpunkt EC60. Thatcher-NILs mit Resistenzen, die in Sorten genutzt werden, sind in Abb. 1A, solche die nicht bzw. nicht nachweisbar in Sorten genutzt werden, in Abb. 1B dargestellt. Für das bessere Verständnis wurden alle Befallswerte der Sorte Thatcher als 100% kalkuliert. Signifikante Unterschiede (> Grenzdifferenz 38,4%) des Befalls im Vergleich zur Sorte Thatcher sind durch „\*“ gekennzeichnet (Tukey-Test,  $\alpha = 0,05$ ).

**Tab. 1.** Untersuchungen von Braunrostisolaten aus dem Feldversuch 2012 am Standort Quedlinburg. Avirulenz eines Isolates (untersuchte Thatcher NIL ohne Symptome) wurde mit „0“, Thatcher NIL mit Läsionen bzw. sichtbare hypersensitive Reaktionen mit „1“, Thatcher NIL mit einzelnen Uredosporenlagern trotz Abwehrreaktion mit „2“ und vollständig anfällige Thatcher NIL mit „3“ bezeichnet

Sorte/Thatcher NILs, von denen Braunrostisolate isoliert wurden												
NIL												
NiLs, Sorte	Thatcher	Lr1	Lr3a	Lr9	Lr10	Lr13	Lr14a	Lr16	Lr17	Lr26	Lr34	Lr37
Thatcher	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3	3
Lr9	1	0	1	1	0	1	1	0	1	0	1	1
Lr19	0	0	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Lr24	0	1	1	0	0	1	0	1	2	0	0	0
Lr26	1	0	0	3	3	1	0	0	1	3	0	0

**Tab. 2.** Einstufung von Sorten hinsichtlich ihrer Resistenz gegenüber Braunrost. Entwicklung von Resistenz zu Anfälligkeit in Sorten wie Tommi, Manager und Türkis (Lr37 ohne weitere effiziente Resistenzen innerhalb weniger Jahre im Vergleich zu den Sorten Actros, Toras und Carenius (mindestens vier teilweise effiziente Resistenzen kombiniert. Einstufung 2: sehr gering bis gering, 3: gering, 4: gering bis mittel, 5: mittel, 6: mittel bis stark, 7: stark, 8: stark bis sehr stark. Jahre, in denen eine Sorte nicht untersucht wurde sind mit k. A. (keine Angaben) angegeben (ANONYM, 2012)

Sorte	Tommi	Manager	Türkis	Actros	Toras	Carenius
Qualitätsstufe	A	B	A	B	A	B
Jahr	Einstufung der Braunrostanfälligkeit					
2003	2	k. A.	3	k. A.	k. A.	k. A.
2004	2	k. A.	3	2	3	k. A.
2005	3	2	4	3	4	2
2006	5	2	4	3	4	2
2007	6	4	6	3	4	2
2008	7	5	5	3	4	3
2009	8	5	7	3	5	3
2010	8	5	7	3	5	3



**Abb. 2.** Ergebnisse des Monitorings des Braunrostbefalls der Jahre 1996–2008 im Feldversuch am Standort Quedlinburg. Schwarze Kreise zeigen den prozentualen Befall der anfälligen Sorte Thatcher. Für das bessere Verständnis wurden alle Befalls-werte der Sorte Thatcher als 100% kalkuliert. Die farblosen Kreise zeigen den auf die 100% der Sorte Thatcher bezogenen Befall der nahe isogenen Thatcherlinie mit Lr37. Der rote Kreis zeigt den Zeitraum in dem kein Unterschied zur anfälligen Sorte Thatcher auftrat.

mindestens vier unterschiedliche Braunrostresistenzgenen sind beispielsweise 'Actros' (*Lr3*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr16*, *Lr26*, *Lr37*), 'Toras' (*Lr3*, *Lr10*, *Lr13*, *Lr17b*, *Lr26*) und 'Carenius' (*Lr1*, *Lr3a*, *Lr26*, *Lr37*, Tab. 2). Die Analysen zeigen einerseits, dass nur noch wenige Braunrostresistenzgene in Deutschland wirksam sind, und dass diese, wie am Beispiel von *Lr37* gezeigt, aufgrund der Dynamik der Virulenzentwicklung, innerhalb kurzer Zeit ihre Wirksamkeit verlieren können.

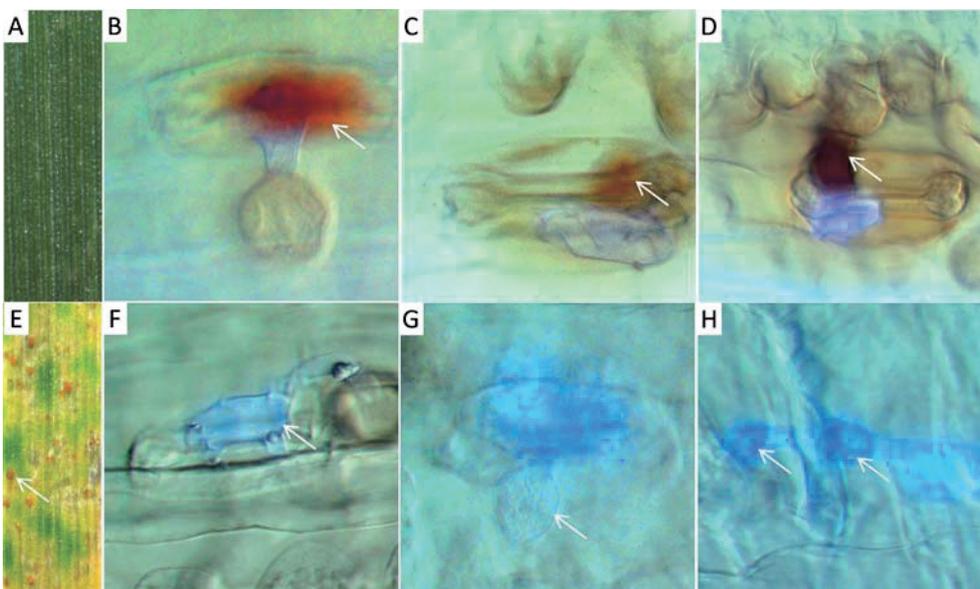
#### Analyse der Braunrostresistenz aus *Triticum monococcum*

Die geringe Nutzungsdauer entsprechender *Lr*-Gene erfordert die Suche nach Möglichkeiten zur Schaffung dauerhafterer Resistenzen. In diesem Zusammenhang stellen die Ausgangsarten des Brotweizens eine wertvolle Quelle dar. LIND (2005) konnte zeigen, dass 13 von 384 untersuchten *Triticum monococcum* Akzessionen prähaustorielle Resistenz gegen Braunrost und weitere Akzessionen Resistenz gegenüber Braunrost, Gelbrost, *Pyrenophora tritici-repentis* und Mehltau aufweisen. Zu diesen gehörte auch die *T. monococcum* Akzession 7038, deren Resistenz im Vergleich mit der anfälligen *T. boeoticum* Akzession 36554 sowohl makroskopisch, mikroskopisch (Abb. 3, 4 und 5) als auch molekular charakterisiert wur-

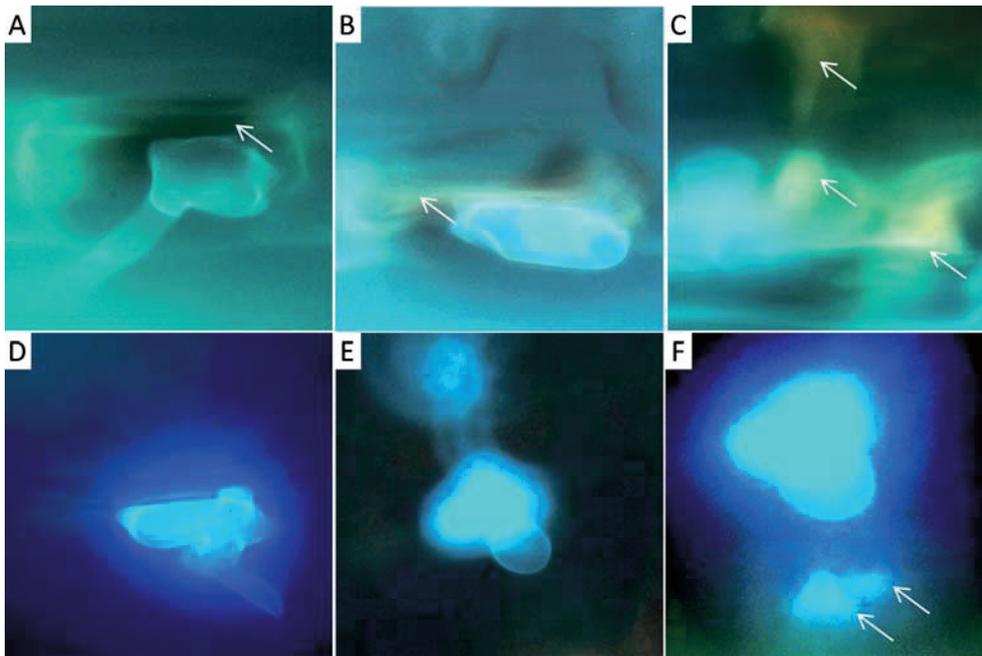
de. Um den horizontalen Charakter der Resistenz zu prüfen, wurden in Keimpflanzentests 7 hochvirulente Isolate verwendet. Gegen alle konnte makroskopisch Resistenz in Akzession 7038 beobachtet werden (Boniturwert „0“, keine Symptome, einzelne Nekrosen, während Akzession 36554 anfällig war (Boniturwert „2“, Uredosporenlager mit umgebenden Nekrosen, Abb. 3). Neben den makroskopischen Unterschieden hinsichtlich der Braunrostresistenz (vgl. Abb. 4A und 4E, Pfeil deutet auf Uredosporenlager) konnten mikroskopisch detailliert Abwehrreaktionen des umgebenden Zellgewebes nachgewiesen werden. So kam es bereits nach 6 h, aber auch nach 12 und 24 h zu einer sichtbaren H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Akkumulation im Gewebe der resistenten *T. monococcum* Akzession 7038 (Abb. 4B, C, D durch Pfeile hervorgehoben), während sich in der anfälligen Akzession nach Ausbildung des Appressoriums (Abb. 4F, Pfeil) weitere Infektionsstrukturen wie Vesikel nach 12 h (Abb. 4G, Pfeil) und Haustorienmutterzellen nach 24 h (Abb. 4H, Pfeil) ausbildeten. Dies spricht für eine effektive und früheinstsetzende hypersensitive Reaktion, um die Infektionsstelle, die zu einer Inhibierung des Infektionsfortschrittes bereits im Stadium der Ausbildung einer Haustorienmutterzelle führt. Eingeschränkte Fluoreszenz des pilzlichen Gewebes nach Calcofluorfärbung und Autofluoreszenz um die Infektionsstelle weisen

Genotyp	77WxR	167WxR	58WxR	Tommi1	HK1990	12/3-01	4/6 - 05
7038	0-1	0	0	0	0-1	0	0
36554	2	1-2	2	2	2	2	2

**Abb. 3.** Makroskopische Virulenzanalysen auf Keimpflanzen der Akzessionen 7038 und 36554. Die Anfälligkeit gegenüber den verwendeten Isolaten wurde, wenn keine Uredosporenlager und Chlorosen sichtbar waren mit „0“, bei Chlorosen ohne Uredosporenlager mit „1“, bei Uredosporenlagern mit Chlorosen mit „2“ und bei vorhandenen Uredosporenlagern ohne sichtbare makroskopische Reaktion mit „3“ bezeichnet. Entsprechend den Bonituren sind die mit den Isolaten inokulierten Blattsegmente und der jeweilige Phänotyp dargestellt.



**Abb. 4.** Makroskopische Ausprägung der Resistenz und die Akkumulation von Wasserstoffperoxid in der resistenten *T. monococcum* Akzession 7038 (A, makroskopische Ausprägung, B, mikroskopischer Nachweis der Infektionsentwicklung 6 h nach Inokulation, Pfeile deuten auf H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Akkumulation hin, C, 12 h nach Inokulation, D, 24 h nach Inokulation). Die anfällige *T. boeoticum* Akzession 36554 zeigt makroskopisch Uredosporenlager (E) und mikroskopisch fortschreitende Infektionsstrukturen nach 6 h (F, Pfeil zeigt auf Appressorium), nach 12 h (G, Pfeil zeigt auf Infektionsvesikel) und nach 24 h (G, Pfeile zeigen auf Haustorienmutterzellen).



**Abb. 5.** Mikroskopische Darstellung des Infektionsverlaufs nach Fluoreszenzmikroskopie. Die resistente Akzession 7038 zeigt nachweisbar  $H_2O_2$  Akkumulation 6 h nach Inokulation (A, Pfeil) und Autofluoreszenz um die Infektionsstellen nach 12 h (B, Pfeil) und nach 24 h (C, Pfeil). Die anfällige *T. boeoticum* Akzession 36554 zeigt keine Reaktion auf die Infektion und einen deutlich beschleunigten Infektionsverlauf nach 6 h (D), 12 h (E) und 24 h (F) der durch fortschreitende Entwicklung von Infektionsstrukturen sichtbar ist (Pfeile in Abbildung 4F).

nach Infektion der resistenten *T. monococcum* Akzession 7038 auf die Akkumulation phenolischer Substanzen hin (Abb. 5A, B, C, durch Pfeile hervorgehoben), während sich Infektionsstrukturen im anfälligen Genotyp ohne sichtbare Reaktion weiterentwickelten (Abb. 5D, E, F). Um die mikroskopischen Daten molekular zu bestätigen und weitere mögliche Mechanismen der effektiven Abwehrreaktionen zu untersuchen, wurden Expressionsanalysen mittels Real-time PCR durchgeführt. Die Expression wurde in einem Zeitraum direkt nach der Inokulation mit Braunrost bis zu 24 h nach der Inokulation analysiert. Diese Analysen bestätigten die durch die mikroskopischen Daten vermutete Beteiligung einer Peroxidase (Abb. 6A) und des ebenfalls abwehrrelevanten Gens *PR1* (Abb. 6B) an der effektiven prähaustoriellen Resistenz gegenüber Braunrost.

Um Informationen über die Genetik der Braunrostresistenz zu gewinnen und Genomregionen zu identifizieren, welche mit der Braunrostresistenz im Zusammenhang stehen, wurde die resistente Akzession 7038 und die anfällige Akzession 36554 gekreuzt. Die  $F_1$  Pflanzen wiesen eine mittlere Haustorienmutterzellenzahl von  $7,31 \pm 0,32$ , der anfällige Elter 36554 von  $12,7 \pm 0,8$  und die resistente Akzession 7038 einen Wert von  $5,9 \pm 0,9$  (Signifikanz bei Differenz von 1,7 Haustorienmutterzellen) auf. Das Ergebnis der mikroskopischen Analysen konnte durch die makroskopisch sichtbare Anzahl von Uredsporenlagern bestätigt werden. Diese treten dann auf, wenn zuvor bereits eine Anzahl Haustorienmutterzellen, wie sie für die Akzession 36554 beschrieben ist, ausgebildet wurde. So weist Akzession 36554 eine hohe Dichte von Uredsporenlagern (Abb. 7A) auf, während  $F_1$  Pflanzen uniform eine reduzierte Anzahl solcher Lager aufweisen (Abb. 7B, C, D Pfeile). Akzession 7038 wies lediglich Chlorosen auf (Abb. 7E, Pfeile). Diese phäno-

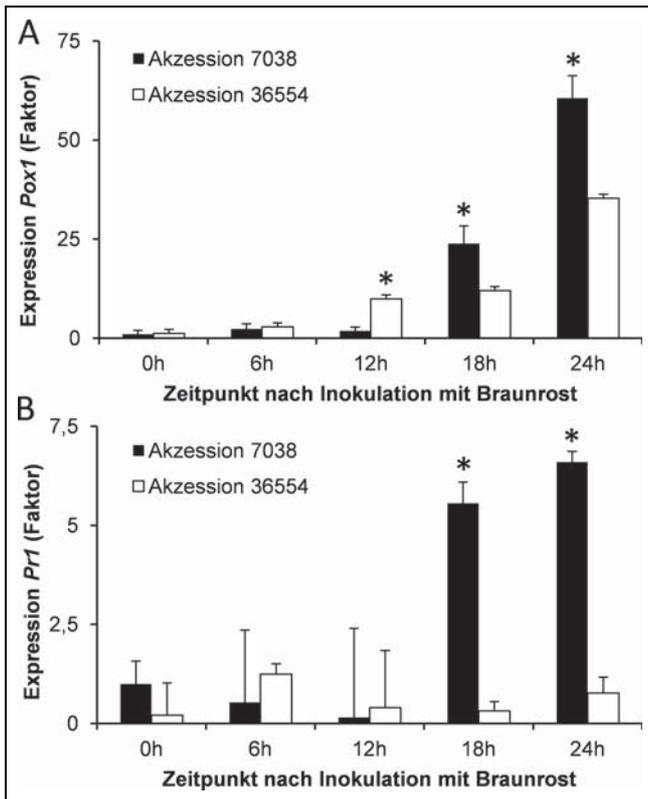
typischen Merkmale werden zukünftig für die Analyse der  $F_2$  und nachfolgend der  $F_3$ -Generation genutzt.

Basierend auf den molekularen Analysen konnten 401 polymorphe Marker identifiziert werden von denen 371 Marker 7 Kopplungsgruppen, die das A-Genom aus *T. monococcum* repräsentieren, zugeordnet werden konnten. Die Gruppen wurden den einzelnen Chromosomen mit Hilfe von SSR-Markern zugeordnet, die an Hand ihrer Position auf den A-Chromosomen des Weizens als Ankermarker verwendet wurden. Dabei wurden für das Chromosomen 1A und das Chromosom 2A jeweils 2 Kopplungsgruppen identifiziert. (siehe Abb. 8A, Chromosom 1A und 2A). Die gesamte Karte umfasst 680,6 cM mit einem durchschnittlichen Markerabstand von 1,83 cM (Abb. 8A und B).

## Diskussion

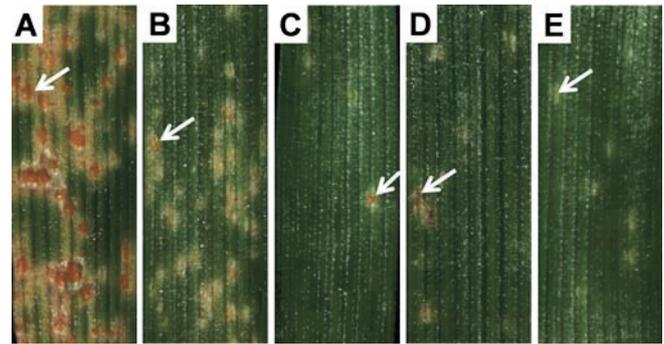
*Puccinia triticina* Epidemien treten weltweit auf, sind seit langem beschrieben und führen beim Anbau anfälliger Sorten regelmäßig zu hohen Ertragsausfällen. Verluste zwischen 6,6 bis zu 62,7% sind sortenabhängig beschrieben (BANCAL et al., 2007, SAYRE et al., 1998). Trotz der Anzahl von mehr als 60 *Lr*-Genen werden bisher nur wenige Braunrostresistenzgene genutzt. GOYEAU und LANNOU (2011) untersuchten 275 europäische Sorten und konnten *Lr13*, *Lr37*, *Lr10*, *Lr14a*, *Lr3*, *Lr26*, *Lr1*, *Lr24*, *Lr20* in 67%, 45%, 34%, 20%, 8%, 7%, 6%, 1% und 1% der Sorten nachweisen.

In Deutschen Sorten konnten an Hand von Pedigreeanalysen und durch Analysen mit molekularen Markern *Lr10*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr17b*, *Lr26* und *Lr37* als die am häufigsten genutzten *Lr*-Gene nachgewiesen werden (SERFLING et al., 2011a). Vereinzelt sind Resistenzen wie



**Abb. 6.** Expressionsanalysen der abwehrrelevanten Gene Pox1 (Peroxidase, Abb. 6A) und Pr1 („pathogenesis related gene“, Abb. 6B) zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach der Inokulation mit Braunrost. Der Faktor zeigt die Expression im Vergleich zur nicht inokulierten Kontrolle der jeweils gleichen Akzession nach Normalisierung durch ein Haushaltsgen mit gleichbleibender Expression (Glycerinaldehyd 3-Phosphatdehydrogenase, GAPDH) an. Signifikante Unterschiede nach direktem Vergleich zwischen Akzession 7038 und 36554 durch „\*“ angegeben ( $\alpha = 0,05$ ).

*Lr1*, *Lr3*, *Lr14*, *Lr16* und *Lr34* enthalten. Die Nutzung weniger Resistenzgene auf einem großen Anteil der Anbaufläche ist problematisch, da durch das hohe Sporenaufkommen des Braunrostes mit 2000 Sporen/Uredosporenlager (bei mäßigem Befall täglich  $8 \times 10^{12}$  Sporen/ha) beschleunigt virulente Isolate entstehen (STATLER, 1985). Werden Sorten mit einzelnen Resistenzen großflächig angebaut, setzen sich durch Selektionsdruck virulente Isolate durch. Diese Aussagen konnten am Beispiel der Resistenz *Lr37* in den Feldversuchen am Standort Quedlinburg bestätigt werden. Innerhalb von zwei Jahren stieg der Befall von Sorten mit dieser Resistenz nach latent niedrigem Befall auf das Niveau des anfälligen Standards. Dies bestätigt Daten, die beispielsweise hinsichtlich der Virulenzentwicklung gegenüber der Resistenz *Lr26* vorliegen. In Europa wurde die Resistenz *Lr26* in mehr als 60 Sorten genutzt. Dies führte zur Selektion des gegenüber dieser Resistenz virulenten Isolates 77-SaBa, das zwischen 1966 und 1969 nicht nachweisbar war und zwischen 1974 und 1976 bereits einen Anteil von 87,2% der untersuchten Braunrostrassen aufwies (BARTOŠ et al., 1996). Ein Isolat, dessen Virulenzmuster 77-SaBa entsprach, wies 2003 in Deutschland einen Anteil von 33% der untersuchten Braunrostrassen auf



**Abb. 7.** Makroskopischer Phänotyp des anfälligen Elter 36554 (A), F<sub>1</sub>-Pflanzen (B,C,D) und des resistenten Elter 7038 (E). Der Pfeil in A, B, C, D deutet auf Uredosporenlager und E auf eine hypersensitive Reaktion.

und umfasste Virulenz gegenüber den Resistenzen *Lr1*, *Lr2a*, *Lr2b*, *Lr2c*, *Lr3*, *Lr11*, *Lr13*, *Lr15*, *Lr17*, *Lr20*, *Lr26* (BARTOŠ et al., 1996; BARTOŠ, 2010). In Frankreich wurde im Jahr 2002 innerhalb der Braunrostpopulation ein Anteil virulenter Isolate gegen die fünf am häufigsten genutzten Resistenzen von 61% (*Lr13*), 65% (*Lr37*), 90% (*Lr10*), 61% (*Lr14a*) und gegenüber der Resistenz *Lr3* von 50% beobachtet. Mit der verbreiteten Einführung der Resistenz *Lr37* ab 2002 in Kombination mit den Resistenzen *Lr10* und *Lr13* auf etwa 35% der Weizenanbaufläche (GOYEAU und LANNOU, 2011), kam es zur Selektion von virulenten Isolaten. Die vorliegenden Daten zeigen, dass virulente Isolate bereits vor der großflächigen Nutzung bestimmter Resistenzen vorhanden sind. Als Beispiel sei das von der NIL-*Lr10* stammende Isolat (siehe Tab. 1), das auf Blattsegmenten Virulenz nicht nur gegenüber der Resistenz *Lr10*, sondern auch gegenüber den in deutschen Sorten genutzten Resistenzen *Lr1*, *Lr13*, *Lr14a*, *Lr16*, *Lr17*, *Lr26* und *Lr37* aufwies, genannt. Setzt sich ein derartiges Isolat auf Grund des großflächigen Anbaus einer Sorte durch, wären von den von SERFLING et al. (2011a) untersuchten Sorten 90 von 115 anfällig, da sie die entsprechenden Resistenzgene enthalten. Zahlreiche Autoren, die mit in Europa gesammelten Isolaten arbeiten, bestätigen die in eigenen Versuchen nachgewiesene Avirulenz gegenüber den Resistenzgenen *Lr9*, *Lr19* und *Lr24* (GOYEAU et al., 2006; GOYEAU und LANNOU, 2011; HANZALOVA et al., 2010; MORGOUNOV et al., 2011). Da diese Resistenzen rassen-spezifisch sind, ist jedoch bei ihrer Nutzung in Sorten zu erwarten, dass sich virulente Isolate durchsetzen. So isolierten PARK et al. (2002) bereits einen Pathotyp, der virulent gegenüber *Lr24* ist. KOLMER (1999) und KOLMER et al. (2004) isolierten Pathotypen mit Virulenz gegenüber *Lr9*. LIND und GULTYAEVA (2006) sowie SIBIKKEEV et al. (1996) konnten bereits vereinzelt virulente Pathotypen gegenüber *Lr19* isolieren. Am Standort Quedlinburg wies das von der NIL *Lr17* stammende Isolat Virulenz gegenüber *Lr24* auf (siehe Tab. 1). Daher ist es unerlässlich, an unterschiedlichen Standorten in Feldversuchen zu prüfen, welche Virulenzen sich innerhalb der jährlich wiederkehrenden Braunrostpopulation entwickeln. Die

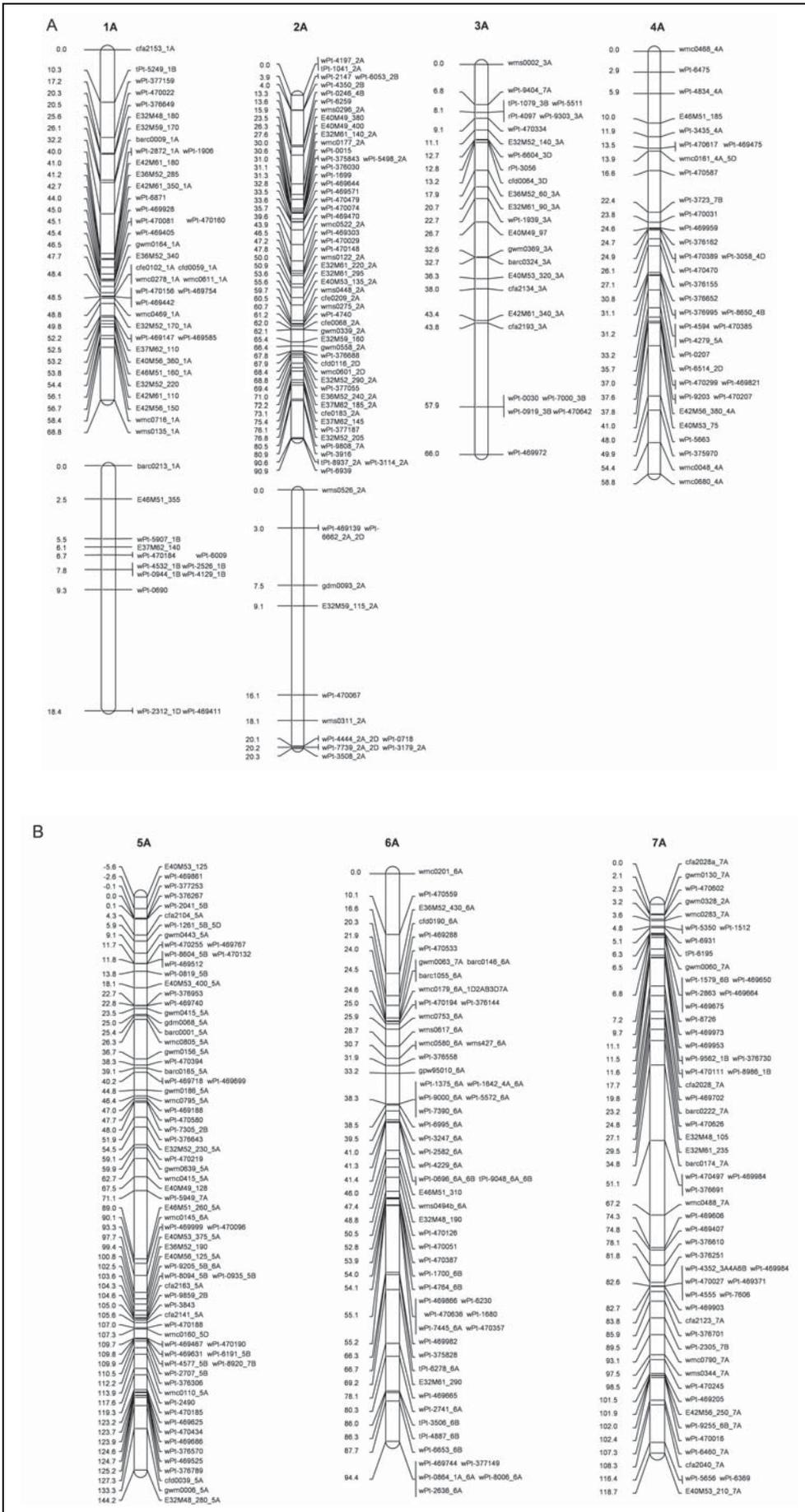


Abb. 8. Genetische Karte der *T. monococcum* Kreuzung 7038 × 36554 basierend auf der Analyse von 91 F<sub>2</sub>-Pflanzen. Die Chromosomen 1 bis 4, von denen 1 und 2 geteilt dargestellt sind, sind in Abb. 8A und die Chromosomen 5–7 in Abb. 8B dargestellt.

bisherigen Ergebnisse am Standort Quedlinburg (SERFLING et al., 2011b) weisen auf hohe Variabilität innerhalb der Population hin, so dass weiterhin Feldversuche zur Prüfung der Virulenz an möglichst mehreren Standorten notwendig sind.

Diese dynamische Entwicklung von Virulenzen erfordert die Suche nach neuen, wirksameren Resistenzen insbesondere in Wildformen des Weizens, aus welchen bereits eine Vielzahl der oben beschriebenen Resistenzgene stammen (SCHNURBUSCH et al., 2004). Die mikroskopischen Aufnahmen der Resistenz in Akzession 7038 zeigen, dass die Entwicklung der Braunrostinfektionsstrukturen vor der Ausbildung von Haustorien innerhalb der Schwammgewebezellen inhibiert ist. Daher kann davon ausgegangen werden, dass in der Akzession 7038 prähaustorielle Resistenz vorliegt.

Als prähaustoriell resistent konnten von ANKER et al. (2001) bereits drei *T. monococcum* Akzessionen identifiziert werden, bei denen 100% der Infektionen vor der Entwicklung von Haustorien inhibiert waren. Die prähaustorielle Resistenz wird beim Vorliegen einer Nichtwirtsresistenz beobachtet und zeichnet sich durch einen horizontalen und gleichzeitig qualitativen Charakter der Resistenz aus (NIKS und DEKENS, 1991, ANKER und NIKS, 2001). Dies konnte an Hand der in der resistenten Akzession 7038 zunächst makroskopisch an der völligen Befallsfreiheit bestätigt werden. Die Ergebnisse der Untersuchung mit Braunrostisolaten, die virulent gegenüber allen bisher auf dem A-Genom des Weizens bekannten *Lr*-Genen sind, sprechen zusätzlich für einen horizontalen Charakter der Braunrostresistenz in Akzession 7038.

Zudem konnte eine schneller und stärker einsetzende Reaktion im Vergleich zur anfälligen Akzession bereits 18 h nach der Inokulation sowohl in den Expressionsstudien als auch mikroskopisch nachgewiesen werden. Die erhöhte Peroxidaseaktivität wurde von der Akkumulation phenolischer Substanzen begleitet und inhibierte effektiv die Ausbildung von Haustorienmutterzellen und Haustorien. Übereinstimmend mit diesen Ergebnissen wurde die vermehrte Akkumulation phenolischer Substanzen im Zusammenhang mit Nichtwirtsresistenz bereits in Klee (*Medicago truncatula*, LOZANO-BAENA et al., 2007) aber auch in Bohnen nach Inokulation mit Weizen gelbrost (CHENG et al., 2012) beobachtet. Ein weiterer Hinweis auf das Vorliegen einer Nichtwirtsresistenz ist die Beteiligung mehrerer Gene (NIKS und MARCEL, 2009). Weitergehende QTL-Analysen werden hierüber Aufschluss geben.

Mit Weizen verwandte Arten wie *Triticum umbellulatum*, *Triticum ventricosum*, *Thinopyrum ponticum*, *Thinopyrum intermedium*, *Aegilops speltoides* und *Aegilops tauschii* wurden in der Vergangenheit bereits für die Übertragung von Braunrostresistenzen genutzt. Darunter befinden sich effektive Braunrostresistenzen wie *Lr19* und *Lr24* (SHARMA und KNOTT, 1966; BROWDER, 1973). Insbesondere *Triticum monococcum* Akzessionen sind als resistent gegen Braunrost beschrieben, jedoch wurden bisher nur wenige Braunrost Resistenzen aus Einkorn-Akzessionen in Weizen übertragen (JACOBS et al., 1996; HUSSIEN et al., 1998).

Die Übertragung entsprechender Resistenzen aus diploiden Wildformen in den hexaploiden Brotweizen ist zeit- und arbeitsaufwendig (JACOBS et al., 1996; VALKOUN, 2001), insbesondere da im Falle der prähaustoriellen Resistenz sehr wahrscheinlich nicht einfach vererbte, monogene Resistenzen zu übertragen sind. Dieses Prozedere kann jedoch durch die Nutzung entsprechender molekularer Marker beschleunigt werden (FRIEDT und ORDON, 2007). Ziel weitergehender Arbeiten ist es daher basierend auf der bereits entwickelten genetischen Karte und der abzuschließenden Phänotypisierung QTL für diese prähaustorielle Resistenz aus der Akzession 7038 zu identifizieren und diese markergestützt über den Nudelweizen (*T. durum*) in den Brotweizen (*T. aestivum*) zu übertragen.

Dieses Beispiel sowie weitere (s.o.) zeigt, dass Wildformen und verwandte Arten eine wertvolle Quelle zur Verbesserung der Resistenzeigenschaften unserer Kulturpflanzen darstellen, welche es gilt, durch Evaluierung genetischer Ressourcen gefolgt von der Aufklärung der Genetik entsprechender Resistenzen und deren Charakterisierung für die Züchtung nutzbar zu machen, um damit langfristig einen Beitrag zu einer umwelt- und verbraucherfreundlichen Pflanzenproduktion zu leisten.

## Literatur

- ANKER, C.C., J.B. BUNTJER, R.E. NIKS, 2001: Morphological and molecular characterization confirm that *Triticum monococcum* s.s. is resistant to leaf rust. *Theor. Appl. Genet.* **103**, 1093-1098.
- ANKER, C.C., R.E. NIKS, 2001: Prehaustorial resistance to the wheat leaf rust fungus, *Puccinia triticina*, in *Triticum monococcum*. *Euphytica* **117**, 209-215.
- ANONYM, 2012: Beschreibende Sortenlisten, Sortenübersicht für: Winterweichweizen (WW): <http://www.bundessortenamt.de/internet30/index.php?id=23>.
- ATIENZA, S.G., H. JAFARY, R.E. NIKS, 2004: Accumulation of genes for susceptibility to rust fungi for which barley is nearly a nonhost results in two barley lines with extreme multiple susceptibility. *Planta* **220**, 71-79.
- BANCAL, M.O., C. ROBERT, B. NEY, 2007: Modelling wheat growth and yield losses from late epidemics of foliar diseases using loss of green leaf area per layer and pre-anthesis reserves. *Ann. Bot.* **100** (4), 777-789.
- BARTOŠ, P., 2010: Rusts Epidemics and their Implications in Wheat Breeding and Research in the Czech Republic *Czech J. Genet. Plant Breed.* **46** (2), 90-96.
- BARTOŠ, P., E. STUHLIKOVÁ, R. HANUŠOVÁ, 1996: Adaptation of wheat rusts to the wheat cultivars in former Czechoslovakia. *Euphytica* **92**, 95-103.
- BROWDER, L.E., 1973: Probable genotype of some *Triticum aestivum* Agent derivatives for reaction to *Puccinia recondita* f. sp. *tritici*. *Crop Sci.* **13**, 203-206.
- CHENG, Y., H. ZHANG, J. YAO, X. WANG, J. XU, Q. HAN, G. WEI, L. HUANG, Z. KANG, 2012: Characterization of non-host resistance in broad bean to the wheat stripe rust pathogen. *BMC Plant Biology* **12**, 96.
- CHHUNEJA, P., S. KAUR, T. GARG, M. GHAI, M. PRASHAR, N.S. BAINS, R.K. GOEL, B. KELLER, H.S. DHALIWAL, K. SINGH, 2008: Mapping of adult plant stripe rust resistance gene in diploid A genome wheat species and their transfer to bread wheat. *Theor. Appl. Genet.* **116**, 313-324.
- DUBIN, H.J., J.P. BRENNAN, 2009: Combating stem and leaf rust of wheat-historical perspective, impacts, and lessons learned. International Food Policy Research Institute (IFPRI) Discussion Paper 00910. URL: <http://www.ifpri.org/sites/default/files/publications/ifpridp00910.pdf>.
- FLOR, H.H., 1956: The complementary genic systems in flax and flax rust. *Adv. Genet.* **8**, 29-54.
- FREIER, B., H. TRILTSCH, M. MÖWES, E. MOLL, 2007: The potential of predators in natural control of aphids in wheat: Results of a

- ten-year field study in two German landscapes. *BioControl* **52** (6), 775-788.
- FRIEDT, W., F. ORDON, 2007: Molecular markers for gene pyramiding and disease resistance breeding in barley. In: VARSHNEY, R., R. TUBEROSA, Genomics assisted crop improvement, Berlin, Springer, 81-101.
- GOYEAU, H., C. LANNOU, 2011: Specific resistance to leaf rust expressed at the seedling stage in cultivars grown in France from 1983 to 2007. *Euphytica* **178** (1), 45-62.
- GOYEAU, H., R. PARK, B. SCHAEFFER, C. LANNOU, 2006: Distribution of pathotypes with regard to host cultivars in french wheat leaf rust populations. *Phytopathology* **96** (3), 264-273.
- HANZALOVA, A., J. HUSZÁR, E. HERZOVA, P. BARTOŠ, 2010: Physiologic specialization of wheat leaf rust (*Puccinia triticina* Eriks.) in the Slovak Republic in 2005, 2006 and 2008. *Czech J. Genet. Plant Breed.* **46** (3), 114-121.
- HOOGKAMP, T.J.H., W.Q. CHEN, R.E. NIKS, 1998: Specificity of pre-haustorial resistance to *Puccinia hordei* and to two inappropriate rust fungi in barley. *Phytopathology* **88** (8), 856-861.
- HÜCKELHOVEN, R., K.H. KOGEL, 2003: Reactive oxygen intermediate accumulation in plant-microbe interactions: Who is who in powdery mildew resistance? *Planta* **216**, 891-902.
- HUSSIEN, T., R.L. BOWDEN, B.S. GILL, T.S. COX, 1998: Chromosomal locations in common wheat of three new leaf rust resistance genes from *Triticum monococcum*. *EUPHYTICA* **101**, 127-131.
- JACOBS, A.S., Z.A. PRETORIUS, F.J. KLOPPERS, T.S. COX, 1996: Mechanisms associated with wheat leaf rust resistance derived from *Triticum monococcum*. *Phytopathology* **86**, 588-595.
- JING, H.C., C. BAYON, K. KANYUKA, S. BERRY, P. WENZL, E. HUTTNER, A. KILIAN, K.E. HAMMOND-KOSACK, 2009: DArT markers: diversity analyses, genomes comparison, mapping and integration with SSR markers in *Triticum monococcum*. *BMC Genomics* **10**, 458-466.
- KILIAN, B., H. ÖZKAN, A. WALTHER, J. KOHL, T. DAGAN, F. SALAMINI, W. MARTIN, 2007: Molecular diversity at 18 loci in 321 wild and 92 domesticated lines reveal no reduction of nucleotide diversity during *Triticum monococcum* (Einkorn) domestication: implications for the origin of agriculture. *Mol. Biol. Evol.* **24** (12), 2657-2668.
- KOLMER, J.A., 1999: Physiologic specialization of *Puccinia triticina* in Canada in 1997. *Plant Dis.* **83**, 194-197.
- KOLMER, J.A., D.L. LONG, M.E. HUGHES, 2004: Physiologic specialization of *Puccinia triticina* on wheat in the United States in 2002. *Plant Dis.* **88**, 1079-1084.
- LIND, V., 2003: Verbesserung der Resistenz gegen den Erreger des Braunrostes (*Puccinia triticina*) in Weizenformen des ökologischen Landbaus, Einkorn (*Triticum monococcum*), Emmer (*Triticum dicoccum*) und Dinkel (*Triticum spelta*). Abschlussbericht. <http://orgprints.org/7830/1/7830-02OE028-ble-baz-2003-braunrost.pdf>.
- LIND, V., 2005: Evaluation of *Triticum monococcum* for resistance to fungal pathogens with special emphasis on prehaustorial resistance to leaf rust. In: LIPMAN, E., L. MAGGIONI, H. KNÜPFER, R. ELLIS, J.M. LEGGETT, G. KLEJER, L. FABEROVÁ, A. BLANC, 2005: Conference paper, Cereal genetic resources in Europe, France, Lar Rochelle, 290-293.
- LIND, V., R. GULTYAEVA, 2006: Virulence frequencies of *Puccinia triticina* in Germany and the European regions of the Russian Federation. *J. Phytopat.* **155**, 13-21.
- LOZANO-BAENA, M.D., E. PRATS, M.T. MORENO, D. RUBIALES, A. PEREZ-DE-LUQUE, 2007: *Medicago truncatula* as a model for nonhost resistance in legume-parasitic plant interactions. *Plant Physiol.* **145** (2), 437-449.
- LIU, G., X. SHENG, D.L. GREENSHIELDS, A. OGIEGLO, S. KAMINSKYJ, G. SELVARAJ, Y. WEI, 2005: Profiling of wheat class III peroxidase genes derived from powdery mildew-attacked epidermis reveals distinct sequence-associated expression patterns. *Mol. Plant-Microbe Interact.* **18** (7), 730-741.
- MCDONALD, B.A., C. LINDE, 2002: The population genetics of plant pathogen and breeding strategies for durable resistance. *Euphytica* **124**, 163-80.
- MORGOUNOV, A., I. ABLOVA, O. BABAYANTS, L. BABAYANTS, L. BESPALOVA, 2011: Genetic protection of wheat from rusts and development of resistant varieties in Russia and Ukraine. *Euphytica* **179** (2), 297-311.
- NIKS, R.E., R.G. DEKENS, 1991: Prehaustorial and posthaustorial resistance to wheat leaf rust in diploid wheat seedlings. *Phytopathology* **81** (8), 847-851.
- NIKS, R.E., T.C. MARCEL, 2009: Nonhost and basal resistance: how to explain specificity? *New Phytologist* **182** (4), 817-828.
- PARK, R.F., H.S. BARIANA, C.R. WELLINGS, H. WALLWORK, 2002: Detection and occurrence of a new pathotype of *Puccinia triticina* with virulence for *Lr24* in Australia. *Aust. J. Agric. Res.* **53**, 1069-1076.
- RÖDER, M.S., V. KORZUN, B.S. GILL, M.W. GANAL, 1998: The physical mapping of microsatellite markers in wheat. *Genome* **41**, 278-283.
- ROTHKEGEL, R., 1950: Geschichtliche Entwicklung der Bodenbonifikationen und Wesen und Bedeutung der deutschen Bodenschätzung. Stuttgart, Eugen Ulmer.
- SAYRE, K.D., R.P. SINGH, J. HUERTA-ESPINO, S. RAJARAM, 1998: Genetic Progress in Reducing Losses to Leaf Rust in CIMMYT-Derived Mexican Spring Wheat Cultivars. *Crop Sci.* **38** (3), 654-659.
- SCHÄFER, P., R. HÜCKELHOVEN, K.H. KOGEL, 2004: The white barley mutants albostrians show a super-susceptible but symptom less interaction phenotype with the hemibiotrophic fungus *Bipolaris sorokiniana*. *Molecular Plant-Microbe Interact.* **17**, 366-373.
- SHARMA, D., D.R. KNOTT, 1966: The transfer of leaf-rust resistance from *Agropyron* to *Triticum* by irradiation. *Can. J. Genet. Cytol.* **8**, 137-143.
- SCHNURBUSCH, T., S. PAILLARD, A. SCHORI, M. MESSMER, G. SCHACHERMAYR, M. WINZELER, B. KELLER, 2004: Dissection of quantitative and durable leaf rust resistance in swiss winter wheat reveals a major resistance QTL in the Lr34 chromosomal region. *Theor. Appl. Genet.* **108** (3), 477-484.
- SERFLING, A., I. KRÄMER, V. LIND, E. SCHLIEPHAKE, F. ORDON, 2011a: Diagnostic value of molecular markers for Lr genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistance. *European Journal of Plant Pathology* **130**, 559-575.
- SERFLING, A., L. LUTHARDT, F. ORDON, 2011b: Charakterisierung der Virulenz einer Braunrost Feldpopulation (*Puccinia triticina* f. sp. *tritici*) und Nachweis effektiver Braunrostresistenzgene in Weizen (*Triticum aestivum*). *Gesunde Pflanzen* **63**, 135-146.
- SIBIKEEV, S.N., V.A. KRUPNOV, S.A. VORONINA, V.A. ELESIN, 1996: First report of leaf rust pathotypes virulent on highly effective Lr genes transferred from *Agropyron* species to bread wheat. *Plant Breed.* **115**, 276-278.
- SMALE, M., R.P. SINGH, K. SAYRE, P. PINGALI, S. RAJARAM, H.J. DUBIN, 1998: Estimating the economic impact of breeding nonspecific resistance to Leaf rust in modern bread wheats. *Plant Dis.* **82** (9), 1055-1061.
- SOMERS, D.J., P. ISAAC, K. EDWARDS, 2004: A high density microsatellite consensus map for bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor. Appl. Genet.* **109**, 1105-1114.
- SONG, Q., J. SHI, S. SINGH, E. FICKUS, J. COSTA, J. LEWIS, B. GILL, R. WARD, P. CREGAN, 2005: Development and mapping of microsatellite (SSR) markers in wheat. *Theor. Appl. Genet.* **110**, 550-560.
- SOURDILLE, P., S. SINGH, T. CADALEN, G.L. BROWN-GUEDIRA, G. GAY, L. QI, B.S. GILL, P. DUFOUR, A. MURIGNEUX, M. BERNARD, 2004: Microsatellite-based deletion bin system for the establishment of genetic-physical map relationships in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Funct. Integr. Genom.* **4**, 12-25.
- STATLER, G.D., 1985: Mutations affecting avirulence in *Puccinia recondita*. *Phytopathology* **75**, 565-567.
- STEIN, N., G. HERREN, B. KELLER, 2001: A new DNA extraction method for high-throughput marker analysis in a large genome species such as *Triticum aestivum*. *Plant Breed.* **120**, 354-356.
- UNTERGASSER, A., I. CUTCUTACHE, T. KORESSAAR, J. YÉ, B.C. FAIRCLOTH, M. REMM, S.G. ROZEN, 2012: Primer3 – new capabilities and interfaces. *Nucleic Acids Res.* **40** (15), 115.
- VALKOUN, J., 2001: Wheat pre-breeding using wild progenitors. *Euphytica* **119**, 17-23.
- VAN OOLJEN, J.W., 2002: MapQTL 4.0, Software for the Calculation of QTL Position on Genetic Maps. URL: <http://www.kyazma.nl/index.php/mc.MapQTL>.
- VOS, P., R. HOGERS, M. BLEEKER, M. RELJANS, T. VAN DE LEE, M. HORNES, A. FRUITERS, J. POT, J. PELEMAN, M. KUIPER, 1995: AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Res.* **11** (23(21)), 4407-4414.