

Kombinierte Krankheitsresistenzen bei Weizen durch quantitative Breitspektrumsresistenz

Combined disease resistances in wheat triggered by quantitative broad-spectrum resistance

Thomas Miedaner^{1*} und Peter Risser^{1,2}

Abstract

Septoria tritici blotch (STB), caused by *Septoria tritici*, Stagonospora glume blotch (SGB), caused by *Stagonospora nodorum*, and Fusarium head blight (FHB), caused by *Fusarium graminearum* and *F. culmorum*, are the most important diseases of winter wheat in the temperate growing areas. We were able to detect broad-spectrum resistance (BSR) quantitative trait loci (QTL) in two adapted European biparental populations (Arina/Forno, History/Rubens) during adult-plant stage in the field. The three resistances were phenotyped across four to seven field environments and phenotypic data revealed significant ($P < 0.01$) genotypic differentiation with heritabilities ranging from 0.73 to 0.93. A BSR QTL for all three diseases was not found, but seven BSR QTL for all combinations with two diseases were detected. One of them was located on chromosome 4D at the *Rht-D1* locus. Combining the detected BSR QTL in present breeding material by applying marker-assisted selection seems a promising approach.

Keywords

Fusarium head blight, quantitative resistance, QTL, Septoria tritici blotch, Stagonospora glume blotch, *Triticum aestivum*

Einleitung

Das Ziel resistenter Sorten ist die Einsparung von Pflanzenschutzmitteln. Dies erhöht den Deckungsbeitrag für den Landwirt und ermöglicht eine umweltfreundliche und

ressourcenschonende Bekämpfung von Krankheiten. Für den praktischen Pflanzenzüchter ergibt sich daraus die Aufgabe, in seinen Sorten Resistenzen gegen alle Erreger anbieten zu müssen, die das gleiche Organ besiedeln. So bringt eine Resistenz gegen Mehltau bei Weizen wenig, wenn trotzdem gegen Blattseptoria Fungizide eingesetzt werden müssen. Inzwischen gibt es zahlreiche Sorten mit hervorragenden kombinierten Resistenzen gegen bis zu sechs pilzliche Krankheitserreger (Tabelle 1).

Der Idiotyp, der einer hypothetischen Sorte entspricht, die die besten derzeit in der Sortenliste verfügbaren Resistenzen kombiniert, zeigt jedoch, dass es durchaus noch Verbesserungsbedarf gibt. Außerdem sind Sorten mit solchen Mehrfachresistenzen häufig nicht im breiten Anbau vertreten. Das Ziel, Mehrfachresistenzen mit anderen komplex vererbten agronomischen Merkmalen zu kombinieren, kann durch Breitspektrumsresistenzen vereinfacht werden.

Breitspektrumsresistenzen (BSR, *broad spectrum resistance*) sind Resistenzen, die entweder gegen viele Rassen eines Pathogens oder gegen mehrere Pathogen-Taxa gleichzeitig wirken (WISSER et al. 2005). Es handelt sich hier um einzelne, molekular klar definierte Loci. Dies ist nicht zu verwechseln mit Genclustern, wo Resistenzen gegen mehrere Rassen/Pathogenarten in derselben, eng begrenzten Genomregion liegen, aber durch Kartierung unterscheidbar sind. Ein solches Gencluster liegt beispielsweise auf Chromosom 3B vor (MIEDANER et al. 2009).

BSR können sowohl monogenisch als auch quantitativ vererbt werden. Ein Beispiel für eine monogenische Breitspektrumsresistenz ist das inzwischen klonierte Gen *Lr34* des Weizens (KRATTINGER et al. 2009). Es wirkt gleich-

Tabelle 1. Beispiele für Sorten mit kombinierten Resistenzen gegen bis zu sechs Erregern (1 = gesund, 9 = sehr anfällig, BSL 2012)

Table 1. Some examples of cultivars with combined resistances towards up to six pathogens (1 = healthy, 9 = highly diseased, BSL 2012)

	Mehltau	Blattseptoria	DTR	Gelbrost	Braunrost	Ährenfusarium
Idiotyp	1	3	3	2	2	2
Hyland	1	3	4	2	2	4
Lucius	3	3	3	-	4	3
Oxal	3	3	3	3	3	5
Zeppelin	1	4	4	2	3	4

¹ Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART

² Gegenwärtige Adresse: Kuratorium für Versuchswesen und Beratung im Zuckerrübenanbau, Marktbreiter Straße 74, D-97199 OCHSENFURT

* Ansprechpartner: Thomas MIEDANER, miedaner@uni-hohenheim.de

zeitig gegen Braunrost (*Lr34*), Gelbrost (*Yr18*), Mehltau (*Pm38*) und Gerstengelbverzwergungsvirus (*Bdv1*). Seine Wirkung ist dabei partiell, bei Braunrost müssen weitere Gene pyramidiert werden, um einen ausreichend hohen Effekt zu erzielen, dabei ist es nach heutigen Erkenntnissen aber dauerhaft. Als verantwortliches Gen wurde ein putativer ABC-Transporter identifiziert. Das ist eine große Familie von Membranproteinen, die als gemeinsames Strukturelement eine ATP-bindende Kasette (*ATP binding cassette*) besitzen und spezifische Substrate aktiv aus der Zelle heraustransportieren.

Inzwischen sind Gene aus *Arabidopsis*, Reis, Kartoffel und Paprika bekannt, die grundlegende Prozesse der Pathogenabwehr steuern und deshalb quantitative BSR vermitteln (KOU und WANG 2010). Dabei erkennt nach dem aktuellen Modell der Wirt-Pathogen-Interaktion die Wirtszelle pathogen-assoziierte molekulare Muster (z.B. Bestandteile der Pilzzellwand), so genannte PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*) und löst über unspezifische Rezeptoren (PRR, *pattern-recognition receptors*) Abwehrreaktionen aus, die sich gegen völlig unterschiedliche Erreger richten können (KOU UND WANG 2010). Da die PAMPs für den Pathogen unverzichtbar und hochkonserviert sind, sollte die sie auslösende BSR dauerhaft sein. Dieser Prozess funktioniert unabhängig von den Abwehrreaktionen, die durch rassenspezifische Resistenzen ausgelöst werden. Bei einer polygenischen Vererbung der BSR lassen sich entsprechend BSR QTL (*quantitative trait loci*) finden, die gleichzeitig gegen nicht-verwandte Pathogentaxa ein quantitatives Maß an Resistenz vermitteln.

Bei Weizen sind solche quantitativen BSR bisher nicht beschrieben. In der vorliegenden Studie suchen wir QTL, die gegen Ährenfusariosen (*Fusarium culmorum*), Blattseptoria (*Septoria tritici*) und/oder Spelzenbräune (*Stagonospora nodorum*) BSR bewirken.

Methodische Voraussetzungen

Der Nachweis von BSR QTL setzt spaltende Populationen voraus, die gegen mehrere Krankheitserreger gleichzeitig quantitative Resistenzen zeigen. Nur dann kann klar gezeigt werden, dass derselbe QTL für mehrere Krankheitsresistenzen verantwortlich ist. Eine Meta-QTL-Studie, die auf unterschiedlichen Populationen und/oder genetischen Karten beruht, kann dies aufgrund der hohen Vertrauensintervalle an den einzelnen Meta-QTL nicht zweifelsfrei leisten. Uns standen zwei RIL-Populationen zur Verfügung, die diese Voraussetzung erfüllten (Tabelle 2). Der Resistenzträger 'Arina' stammt aus der Schweiz (Agroscope, Zürich), 'History' von der Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising. Die Resistenzprüfung fand in allen Fällen (außer bei

Spelzenbräune) durch künstliche Infektion des jeweiligen Krankheitserregers statt, es wurde an allen Orten mehrfach als Prozent befallene Fläche bonitiert. Bei der Infektion mit *S. tritici* wurden Isolate verwendet, die virulent für die in den Eltern enthaltenen Gene *Stb 6* und *Stb 15* waren. Die phänotypischen Daten wurden varianzanalytisch verrechnet, die genetischen Karten von den in Tabelle 2 genannten Autoren zur Verfügung gestellt. Sie umfassten 491 Marker bei History×Rubens, die 2.187 cM umspannten und 394 Marker bei Arina×Forno mit einer Genomlänge von 3.086 cM. Weitere Details finden sich bei RISSER (2010).

Ergebnisse und Diskussion

Die Resistenzen gegen Ährenfusariosen, Blattseptoria und Spelzenbräune waren in den vorliegenden Kreuzungen jeweils quantitativ vererbt, die Befallswerte entsprachen einer Normalverteilung. Es ergaben sich über die Umwelten signifikante ($P < 0.01$) genotypische Varianzen, der Anteil der Genotyp-Umwelt-Interaktionsvarianz war ebenfalls signifikant ($P < 0.01$) und bedeutend, die operativen Heritabilitäten lagen aufgrund der großen Zahl an Umwelten zwischen 0,73 und 0,93. Für die einzelnen Krankheiten fanden sich drei bis sieben QTL, die zusammen zwischen 42 und 63% der phänotypischen Varianz erklärten.

Insgesamt vier QTL bei Arina×Forno und drei QTL bei History×Rubens zeigten eine Resistenz gegen jeweils zwei Krankheiten gleichzeitig. *Abbildung 1* zeigt zwei Beispiele, die belegen, dass die Gipfel der LOD-Kurven für die beiden Krankheitsresistenzen jeweils exakt übereinstimmen. Es handelt sich also nicht um eine bloße Kopplung nahe beieinanderliegender QTL, sondern mit großer Wahrscheinlichkeit um den Einfluss desselben Gens auf verschiedene, nicht-verwandte Pathosysteme. Die BSR QTL waren dabei signifikant über vier bis sieben Umwelten, sind also trotz der großen Genotyp×Umwelt-Wechselwirkungen der drei quantitativen Pathosysteme züchterisch einsetzbar. Weitere Details zur Charakterisierung der QTL finden sich bei MIEDANER et al. (2012).

Der BSR QTL von History×Rubens auf Chromosom 4D war identisch mit dem Zwerggen *Rht-D1* (syn. *Rht2*). Es erhöhte in diesem Fall nicht nur, wie bereits bekannt, die Anfälligkeit gegen Ährenfusarium, sondern auch gegen Blattseptoria. Es ist zu berücksichtigen, dass dabei die günstigen Allele von verschiedenen Eltern kommen. 'History' gilt als „resistent“, weil die Sorte das Wildtyp-Allel *Rht-D1a* (langstrohig) trägt, 'Rubens' ist durch das Allel *Rht-D1b* kurzstrohig. Die Anteile erklärter genotypischer Varianz waren in allen Fällen >20%.

Es gibt in der Literatur zahlreiche Erklärungsversuche für BSR QTL (KOU und WANG 2010). Im vorliegenden Fall

Tabelle 2. Grundlegende Daten der untersuchten Weizenpopulationen (N = Populationsgröße)

Table 2. Basic characteristics of the analyzed wheat populations (N = population size)

Population	Resistenz	Anzahl Umwelten	Referenz
History×Rubens (N=94)	Ährenfusariosen	5	VOSS et al. 2008, HOLZAPFEL et al. 2008
	Blattseptoria	6	MIEDANER et al. 2012
Arina×Forno (N=200)	Ährenfusariosen	6	PAILLARD et al. 2004
	Spelzenbräune	7	SCHNURBUSCH et al. 2003
	Blattseptoria	4	MIEDANER et al. 2012

A. Arina x Forno (Chr. 4B)

B. History x Rubens (Chr. 7B)

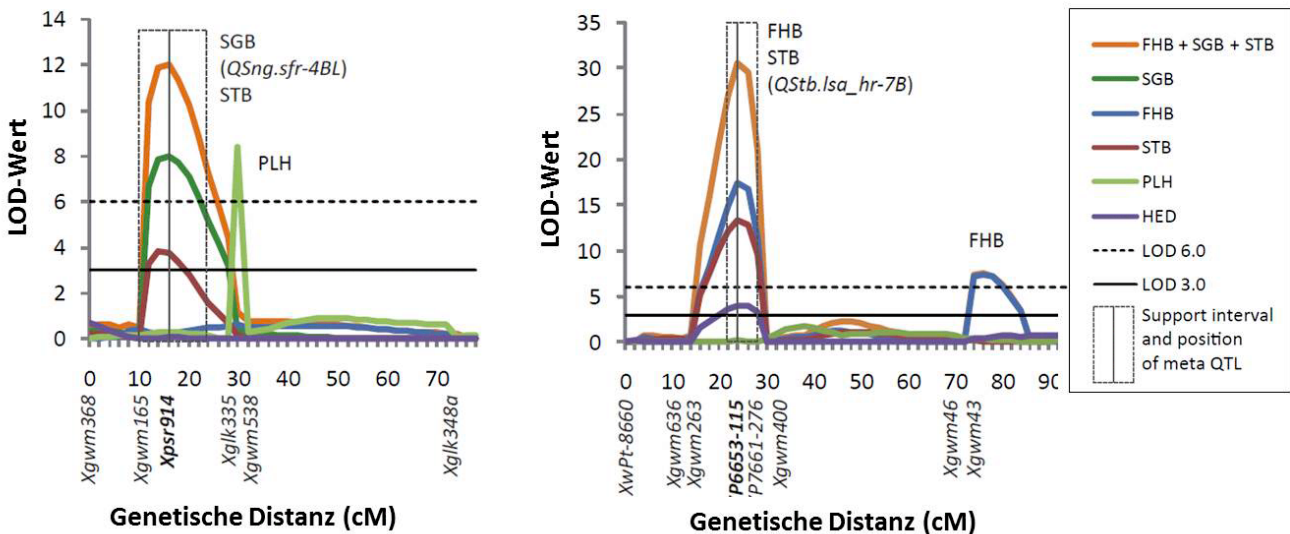


Abbildung 1. Zwei Beispiele für BSR QTL aus (A) Arina×Forno bzw. (B) History×Rubens für Resistenz gegen Ährenfusariosen (FHB), Blattseptoria (STB) bzw. Spelzenbräune (SGB); PLH, Wuchshöhe; HED, Datum des Ährenschiebens

Figure 1. Two examples for BSR QTL from the (A) Arina×Forno and (B) History×Rubens population for resistance to Fusarium head blight (FHB), Septoria tritici blotch (STB), and Stagonospora glume blotch (SGB); PLH, plant height; HED, date of heading

am wahrscheinlichsten ist es, dass die gefundenen QTL in Mechanismen der Basalresistenz und/oder allgemein vorhandener Signaltransduktionsketten eingreifen. Da die Pathogene nicht miteinander verwandt sind, unterschiedliche Organe (Blatt/Ähre), zu unterschiedlichen Pflanzenstadien (Erscheinen des Fahnenblatts/Blüte) befallen, könnte die Resistenz des Weizens durch allgemeine, hochkonservierte Pathogenitätsfaktoren (PAMPs) ausgelöst werden.

Es ist bemerkenswert, dass für alle paarweisen Vergleiche von Pathosystemen BSR QTL gefunden wurden, nicht jedoch für alle drei Pathosysteme gemeinsam (Abbildung 2). Dies mag jedoch auch daran liegen, dass die Resistenz gegen Spelzenbräune nur in einer Population untersucht wurde, die beiden anderen Krankheitsresistenzen jedoch in jeweils beiden Populationen. Dies erklärt auch die unterschiedliche Zahl von Resistenz-QTL für die drei Pathosysteme. In der vorliegenden Studie wurden Originaldaten von vier unterschiedlichen Promotionsprojekten verwendet (s. Tabelle 2). Dies bedeutet, dass die BSR QTL detektiert werden konnten, obwohl die Resistenzprüfungen in verschiedenen Umwel-

ten (Orte, Jahre), mit verschiedenen Infektionsmethoden (natürlich, künstlich), unterschiedlichen Bonitursystemen (Einzelpflanzen, Parzelle) sowie vier Bonituren stattfanden.

Züchterische Konsequenzen

Es wurden erstmals bei Weizen BSR QTL gefunden, die eine Resistenz gegen jeweils zwei nicht-verwandte Pathosysteme ermöglichen. Die große Zahl dieser BSR QTL

Tabelle 3. Wirkung des Zwerggens *Rht-D1* in der History×Rubens-Population: Additive Effekte, Donor und Anteil erklärter genotypischer Varianz (p_G)

Table 3. Impact of the dwarfing gene *Rht-D1* in the History×Rubens population: Additive effects, donor parent and percentage of explained genotypic variance (p_G)

Parameter	Wuchshöhe (cm)	Ährenfusarium (%) ¹	Blattseptoria (%)
Additiver Effekt	-8,6 **	-6,3 **	-9,8 **
Donor	Rubens	History	History
p_G (%)	30,5	31,4	24,4

** Signifikanter Effekt bei $P < 0.01$ (Standard *t*-Test der multiplen Regression)

¹ Daten von HOLZAPFEL et al. (2008)

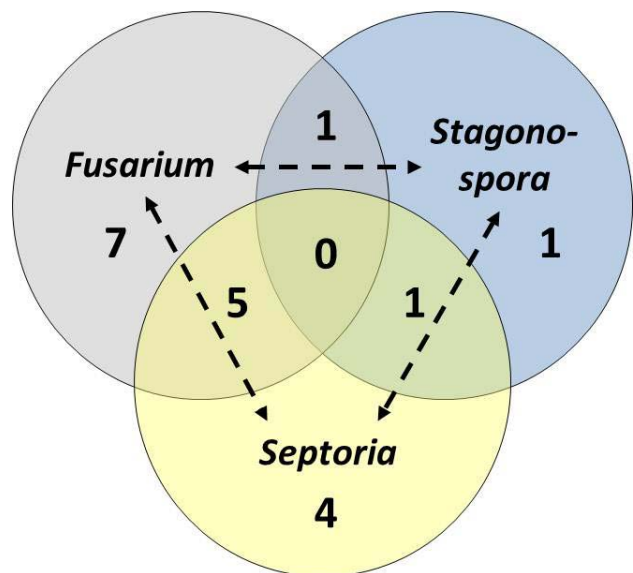


Abbildung 2. Anzahl der QTL, die für die drei Krankheitsresistenzen alleine bzw. überlappend zwischen je zwei Resistenzen gefunden wurden

Figure 2. Number of QTL identified for three disease resistances individually and combined for each of two resistances

weist daraufhin, dass es sich dabei nicht um ein seltenes Phänomen handelt. Die Nutzung solcher QTL erleichtert die Aufgabe des Züchters, Sorten mit möglichst vielen kombinierten Krankheitsresistenzen zu entwickeln. In Zukunft könnte es sinnvoll sein, nach erfolgter Selektion auf Kornertrag und Qualitätsmerkmale die entsprechenden QTL mit markergestützter Rückkreuzung in Sortenkandidaten einzulagern, um Sorten zu entwickeln, die nicht nur vielfach resistent sind, sondern auch wegen ihrer anderen Eigenschaften von den Landwirten nachgefragt werden.

Danksagung

Unser Dank gilt den Kollegen, die großzügig ihre Daten bereitstellten (Dr. J. Holzapfel, Prof. Dr. B. Keller, Dr. S. Paillard, Dr. T. Schnurbusch), den beteiligten Projektpartnern (Dr. E. Ebmeyer, Dr. V. Korzun, Dr. L. Hartl) sowie dem technischen Personal der Universität Hohenheim, der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft und der KWS LOCHOW GMBH. Das Projekt wurde finanziell unterstützt vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, Bonn) *via* PTJ (Jülich) und der KWS LOCHOW GMBH innerhalb des Deutsch-Französisch-Spanischen Projektes ERA-Net PG-CEREHEALTH (Project no: 0313992B).

Literatur

- BSL (BESCHREIBENDE SORTENLISTE), 2012: Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte. Bundessortenamt, Hannover, Deutschland.
- HOLZAPFEL J, VOSS H-H, MIEDANER T, KORZUN V, HÄBERLE J, SCHWEIZER G, MOHLER V, ZIMMERMANN G, HARTL L, 2008: Inheritance of resistance to Fusarium head blight in three European winter wheat populations. *Theor Appl Genet* 117, 1119-1128.
- KOU Y, WANG S, 2010: Broad-spectrum and durability: understanding of quantitative disease resistance. *Curr Opin Plant Biol* 13, 181-185.
- KRATTINGER SG, LAGUDAH ES, SPIELMEYER W, SINGH RP, HUERTA-ESPINO J, McFADDEN H, BOSSOLINI E, SELTER LL, KELLER B, 2009: A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 323, 1360-1363.
- MIEDANER T, LÖFFLER M, RISSER P, SCHWEIZER P, EBMEYER E, KORZUN V, KESSEL B, OUZUNOVA M, 2009: Genetische und molekulare Analyse von drei Pathosystemen bei Weizen und Mais - *Fusarium* & *Septoria*. 59. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2008, 13-18. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.
- MIEDANER T, RISSER P, PAILLARD S, SCHNURBUSCH T, KELLER B, HARTL L, HOLZAPFEL J, KORZUN V, EBMEYER E, UTZ HF, 2012: Broad-spectrum resistance loci for three quantitatively inherited diseases in two winter wheat populations. *Mol Breed* 29, 731-742.
- PAILLARD S, SCHNURBUSCH T, TIWARI R, MESSMER M, WINZELER M, KELLER B, SCHACHERMAYR G, 2004: QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in Swiss winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109, 323-332.
- RISSER P, 2010. Mapping of quantitative-trait loci (QTL) for adult-plant resistance to *Septoria tritici* in five wheat populations (*Triticum aestivum* L.): PhD thesis, Univ. Hohenheim. [Internet: <http://opus.ub.uni-hohenheim.de/volltexte/2010/517/>; verifiziert 9 Nov 2012]
- SCHNURBUSCH T, PAILLARD S, FOSSATI D, MESSMER M, SCHACHERMAYR G, WINZELER M, KELLER B, 2003: Detection of QTLs for Stagonospora glume blotch resistance in Swiss winter wheat. *Theor Appl Genet* 107, 1226-1234.
- VOSS HH, HOLZAPFEL J, HARTL L, KORZUN V, RABENSTEIN F, EBMEYER E, COESTER H, KEMPF H, MIEDANER T, 2008: Effect of the *Rht-D1* dwarfing locus on Fusarium head blight rating in three segregating populations of winter wheat. *Plant Breed* 127, 333-339.
- WISSER RJ, SUN Q, HULBERT SH, KRESOVICH S, NELSON RJ, 2005: Identification and characterization of regions of the rice genome associated with broad-spectrum, quantitative disease resistance. *Genetics* 169, 2277-2293.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.