

Aus der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät der Universität Rostock,  
Professur für Agrobiotechnologie

**Pyramidisierung von QTL im Hinblick auf eine Verbesserung  
der *Barley yellow dwarf virus* Toleranz der Gerste und  
genetische Analyse der Toleranz gegenüber *Wheat dwarf virus***

Dissertation

zur

Erlangung des akademischen Grades

Doktor der Agrarwissenschaften (doctor agriculturae)

an der Agrar- und Umweltwissenschaftlichen Fakultät

der Universität Rostock

Rostock 2013

vorgelegt von Dipl.Ing. (FH) Christine Riedel  
aus Freising

**Gutachter:**

1. Gutachter:

Prof. Dr. Inge Broer

Professur für Agrobiotechnologie, Universität Rostock

2. Gutachter:

Prof. Dr. Ralf Uptmoor

Professur für Pflanzenbau, Universität Rostock

3. Gutachter:

Prof. Dr. Frank Ordon

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen,

Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Quedlinburg

4. Gutachter:

Prof. Dr. Dr. h. c. Wolfgang Friedt

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung I,

Justus-Liebig-Universität Gießen

**Datum der Einreichung:** 04. Februar 2013

**Datum der Verteidigung:** 24. Juni 2013

## Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Einleitung</b> .....	<b>1</b>
1.1	Das <i>Barley yellow dwarf virus</i> (BYDV) .....	3
1.1.1	Charakterisierung und Verbreitung .....	3
1.1.2	Resistenz bzw. Toleranz gegenüber BYDV .....	7
1.2	Das <i>Wheat dwarf virus</i> (WDV) .....	11
1.2.1	Charakterisierung und Verbreitung .....	11
1.2.2	Resistenz bzw. Toleranz gegenüber WDV .....	14
1.3	Methoden zur Erfassung von Virusresistenz .....	14
1.4	Molekulare Marker und genetische Karten als Grundlage für die Gerstenzüchtung.....	16
1.5	Resistenzgene und QTL für die markergestützte Selektion auf Virusresistenz in Gerste .....	19
1.6	Pyramidisierung von Resistenzgenen .....	20
1.7	Zielsetzung und Vorgehen .....	22
<b>2</b>	<b>Material und Methoden</b> .....	<b>23</b>
2.1	Pflanzenmaterial .....	23
2.2	Virusinokulation .....	24
2.3	Feldversuche .....	25
2.4	Gewächshausversuche.....	27
2.5	Erfassung der Toleranz der DH-Linien .....	28
2.6	DAS-ELISA.....	29
2.7	Molekulare Analysen.....	32
2.7.1	DNA-Extraktion und Konzentrationsbestimmung .....	32
2.7.2	Genotypisierung.....	33
2.8	Berechnung der genetischen Kopplungskarte.....	39
2.9	QTL-Analysen .....	39
2.10	Statistische Analyse der Feld- und Gewächshausversuche .....	40
<b>3</b>	<b>Ergebnisse</b> .....	<b>41</b>
3.1	Pyramidisierung von BYDV-Toleranzallelen in der Gerste .....	41
3.1.1	Genotypisierung der DH-Populationen.....	41
3.1.2	Phänotypisierung der DH-Population `RIL K4-56´ x `Coracle´.....	41
3.1.3	Phänotypisierung der DH-Population `RIL K4-56´ x `DH21-136´ .....	47
3.1.4	Übertragungsversuch mit BYDV-PAV im Gewächshaus .....	51
3.1.5	Markerabsättigung QTL 2HL (BYDV).....	53

---

3.2	Analyse der WDV-Toleranz der Gerstensorte `Post` .....	54
3.2.1	Charakterisierung der DH-Population `Post` x `Vixen` I .....	54
3.2.2	Charakterisierung der DH-Population `Post` x `Vixen` II .....	59
3.2.3	QTL-Analyse der WDV-Toleranz .....	66
<b>4</b>	<b>Diskussion</b> .....	<b>68</b>
4.1	Pyramidisierung von BYDV-Toleranzallelen in der Gerste .....	68
4.1.1	Eingrenzung des QTL (BYDV) auf Chromosom 2HL .....	68
4.1.2	Gestörte Segregation der DH-Linien .....	68
4.1.3	Resistenzwirkung von <i>Ryd2</i> , <i>Ryd3</i> und des QTL auf Chromosom 2H... ..	69
4.1.4	Pyramidisierung zur Verbesserung des Resistenzniveaus .....	70
4.1.5	ELISA als Maß für die Widerstandsfähigkeit gegenüber BYDV .....	72
4.1.6	Epidemiologische Konsequenzen eines verringerten Virustiters .....	74
4.1.7	Nutzen und Einsatzmöglichkeiten des getesteten Pflanzenmaterials in der Gerstenzüchtung .....	75
4.2	Kartierung der WDV-Toleranz aus `Post` .....	76
4.2.1	Phänotypische Reaktion der DH-Populationen `Post` x `Vixen` I und II ..	76
4.2.2	Einfluss der Inokulationsbedingungen auf die Infektionsrate .....	76
4.2.3	Genetische Kopplungskarte der DH-Population `Post` x `Vixen` II .....	77
4.2.4	QTL für WDV-Toleranz und markergestützte Selektion.....	79
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung</b> .....	<b>81</b>
<b>6</b>	<b>Summary</b> .....	<b>82</b>
<b>7</b>	<b>Literatur</b> .....	<b>83</b>
<b>8</b>	<b>Anhang</b> .....	<b>103</b>
8.1	Anhang zu Material und Methoden .....	103
8.1.1	Pflanzenschutzmaßnahmen in den Feldversuchen .....	103
8.1.2	Markerdaten und PCR-Protokolle .....	105
8.1.3	Verfahren der Gel-Elektrophorese .....	111
8.2	Anhang zu Ergebnissen .....	111
8.2.1	Sommergersten DH-Population `RIL K4-56` x `Coracle` .....	111
8.2.2	Wintergersten DH-Population `RIL K4-56` x `DH21-136` .....	114
8.2.3	BYDV-PAV Übertragungsversuch im Gewächshaus .....	118
8.2.4	DH-Population `Post` x `Vixen` I .....	119
8.2.5	DH-Population `Post` x `Vixen` II .....	119
<b>9</b>	<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>120</b>
<b>10</b>	<b>Tabellen- und Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>121</b>

## 1 Einleitung

Die Gerste (*Hordeum vulgare* L.) ist nach Weizen die bedeutendste Kulturart im Getreideanbau in Deutschland und Europa. Im Jahr 2012 wurden im Bundesgebiet auf einer Anbaufläche von 1,1 Mio. ha durchschnittlich 65 dt/ha Wintergerste geerntet (BMELV 2012) und im Wesentlichen als Futtergerste und in zunehmendem Maße auch als Braugerste verwendet. Die Anbaufläche der Gerste ist im Vergleich zu den Vorjahren leicht rückläufig. Die Gerste wurde neben Getreidearten wie Einkorn und Emmer bereits in der Jungsteinzeit kultiviert (Histokomp 2011) und über mehrere tausend Jahre unbewusst und bewusst im Hinblick auf landwirtschaftlich wichtige Eigenschaften selektiert (SANG 2009). In den letzten Jahren ist zur nachhaltigen Sicherung der Erträge die Widerstandsfähigkeit gegenüber Phytopathogenen sowie abiotischem Stress stärker in den Fokus der Züchtung getreten. Neben pilzlichen Schaderregern führen Virose, die durch im Boden lebende Organismen, wie zum Beispiel *Polymyxa graminis*, oder Insekten übertragen werden, zu erheblichen Ertragsverlusten (PENNAZIO et al. 1996; ORDON et al. 2009). Vor dem Hintergrund des prognostizierten Klimawandels werden längere Perioden mit höheren Temperaturen im Herbst und Winter erwartet, was zu einer verlängerten Flugaktivität und günstigeren Überwinterungsbedingungen von Insekten führt (HARRINGTON et al. 200; JONES 2009). Damit werden voraussichtlich die durch Insekten übertragenen Viren stark an Bedeutung gewinnen (HABEKUß et al. 2009; HARRINGTON 2003; ROOS et al. 2011).

Zu den nicht nur in Mitteleuropa wirtschaftlich wichtigsten Virose an der Gerste aber auch an Weizen zählt die aphidenübertragene Gerstengelbverzwergung, die durch verschiedene Viren, nämlich das *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) und das *Cereal yellow dwarf virus* (CYDV) verursacht wird. Die mit der Virusinfektion einhergehenden ausgeprägten Wuchsdepressionen können zu hohen Ertragsverlusten von bis zu 40 % (LISTER & RANIERI 1995) führen. Eine ähnliche Bedeutung im Getreideanbau erreicht das durch die Zwergzikade *Psammodettix alienus* übertragene *Wheat dwarf virus* (WDV, HABEKUß et al. 2009).

Die durch BYDV und WDV verursachten Ertragsverluste können durch eine chemische Bekämpfung der Vektoren und die Beseitigung von Zwischenwirten verringert werden (OBERFORSTER 2002), jedoch ist der effizienteste und umweltfreundlichste Weg zur Sicherung der Erträge im Anbau resistenter Sorten zu

sehen. Gegenüber *Barley yellow dwarf virus* wurde bisher nur das Gen *Ryd2*, welches auf Chromosom 3H der Gerste lokalisiert ist (COLLINS et al. 1996; SCHALLER et al. 1964), genutzt. Mittlerweile konnten weitere Quellen für BYDV-Toleranzen in der Gerste identifiziert werden, wie das Gen *Ryd3* auf Chromosom 6H (NIKS et al. 2004) und mehrere QTL, z. B. auf Chromosom 2HL (SCHEURER et al. 2001). Eine Möglichkeit das Resistenzniveau zu erhöhen und entsprechende Allele langjährig zu nutzen stellt die Kombination von mehreren positiven Allelen in einem Genotyp dar (Pyramidisierung, z. B. WERNER et al. 2005). Im Gegensatz zum BYDV ist für das *Wheat dwarf virus* bisher nur wenig über resistente/tolerante Genotypen bekannt bzw. es liegen keine Information zur Genetik dieser Toleranzen vor, wodurch die züchterische Nutzung erschwert wird.

Ziele der vorliegenden Arbeiten waren daher (i) die Kombination von *Ryd2*, *Ryd3* und einem QTL auf dem Chromosom 2HL in doppelhaploiden Gerstenlinien im Hinblick auf eine Verbesserung des Toleranzniveaus gegenüber *Barley yellow dwarf virus*, sowie (ii) die Identifikation von QTL für die *Wheat dwarf virus*-Toleranz der Sorte 'Post', um diese für die Züchtung nutzbar zu machen.

## 1.1 Das Barley yellow dwarf virus (BYDV)

### 1.1.1 Charakterisierung und Verbreitung

Das *Barley yellow dwarf virus* wurde erstmals von OSWALD und HOUSTON (1951) in Kalifornien beschrieben und in den Folgejahren in vielen weiteren Ländern wie Großbritannien (WATSON & MULLIGAN 1957), Australien und Neuseeland (SMITH 1955; SMITH 1957), USA (ROCHOW 1958), Indien (NAGAICH 1963) und Deutschland (RADEMACHER & SCHWARZ 1958) nachgewiesen. Heute zählt es weltweit zu den wirtschaftlich bedeutsamsten Getreidepathogenen.

Das BYDV wird in der Familie *Luteoviridae* der Gattung *Luteovirus* zugeordnet (DOMIER 2008). Lange Zeit zählten zum BYDV neben den heutigen Stämmen BYDV-PAV und -MAV auch die Stämme -RPV und -RPS, die jeweils nach ihren Hauptvektoren benannt wurden (ROCHOW 1969). Aufgrund von serologischen und cytopathologischen Unterschieden sowie Sequenzvariationen (GILL & CHONG 1979; ROCHOW & DUFFUS 1981; WANG et al. 1998) werden diese aber inzwischen als eigenständige Art *Cereal yellow dwarf virus* innerhalb der Gattung *Polerovirus* geführt. Die Virus-Stämme BYDV-GPV, BYDV-RMV, BYDV-GAV und BYDV-SGV wurden bisher hingegen keiner Gattung zugeordnet (DOMIER 2008).

Die ikosaedrischen Kapside der Viren des *Barley yellow dwarf*-Komplexes haben einen Durchmesser von 25 bis 28 nm und sind aus großen und kleinen Hüllproteinuntereinheiten zusammengesetzt. Das 5,3 bis 5,9 Kilobasen große Virusgenom liegt in Form eines positiven linearen RNA-Einzelstranges vor. In detaillierten Sequenzuntersuchungen, insbesondere des BYDV-PAVs, konnten sechs offene Leserahmen (ORFs) identifiziert werden, welche für die Virusvermehrung, -ausbreitung und -übertragung durch Blattläuse verantwortlich sind (DOMIER 2008).

Das BYDV wird persistent durch mindestens 25 Blattlausarten übertragen, nicht aber mechanisch oder über Samen (HALBERT & VOEGTLIN 1995). Die Blattlausarten unterscheiden sich deutlich in ihrer Übertragungsfähigkeit für die verschiedenen Virusarten bzw. -stämmen. Die Stämme sind anhand der Anfangsbuchstaben der Hauptvektoren benannt, z. B. BYDV-PAV nach *Rhopalosiphum padi* (L.) und BYDV-MAV nach *Sitobion* (*Macrosiphum*) *avenae* (Fabr.). Die größte Verbreitung und höchste Virulenz und damit Bedeutung in Mittel- und Westeuropa besitzt das BYDV-

PAV gefolgt von BYDV-MAV und CYDV-RPV (DOMIER 2008; HABEKUß et al. 2002; SIGNORET & MAROQUIN 1990).

Wirtspflanzen sind neben den ökonomisch bedeutenden Getreidearten Gerste (*Hordeum vulgare* L.), Weizen (*Triticum aestivum* L.), Hafer (*Avena sativa* L.), Roggen (*Secale cereale* L.), Reis (*Oryza sativa* L.) und Mais (*Zea mays* L.) auch viele Wildgräser aus der Familie der *Poaceae*. Diese Wildgräser am Ackerrand oder auf Stilllegungsflächen können ebenso wie Ausfallgetreide als Zwischenwirte für die Viren und ihre Vektoren fungieren und so den Kreislauf für eine ganzjährige Infektion des Getreides schließen (HABEKUß et al. 2002). Infektionsexperimente mit Hilfe von *Agrobacterium* zeigten, dass der Wirtspflanzenkreis des Virus hauptsächlich durch den Wirtspflanzenkreis der Blattläuse auf die bekannten Arten beschränkt ist, theoretisch aber auch eine Infektion von z. B. *Nicotiana*-Arten möglich ist (DOMIER 2008; YOON 2011).

Abhängig von der Wirtspflanze und dem Virusstamm bzw. -isolat zeigen sich variable Symptome (MILLER & RASOCHOVA 1997). Die Virussympptome wurden in verschiedenen Arbeiten, z. B. bei BRUEHL (1961), ROCHOW (1961) und später bei BURNETT (1984) beschrieben und bei D'ARCY (1995) zusammengefasst. Die am häufigsten beobachteten Symptome sind (i) eine Verzweigung der Pflanzen durch Stauchung der Sprosse (Verkürzung der Internodien) sowie der Wurzeln, (ii) Vergilbungen (Gerste) bzw. Rötungen (Weizen, Hafer) der Blätter, die an der Blattspitze beginnen und (iii) ein deutlich reduzierter Kornertrag durch eine verringerte Anzahl ährentragender Halme und durch taube Ähren, sowie Ausbildung von Kümmerkörnern. Die Viruserkrankung erhöht außerdem die Anfälligkeit für andere Pathogene und abiotischen Stress, was häufig in einem Befall mit pathogenen Pilzen und einer verminderten Winterhärte resultiert (DELSERONE et al. 1987; HABER 1995). Die Wuchsdepressionen und Verfärbungen durch eine Virusinfektion sind auf eine Degeneration des Phloems zurückzuführen, die einen verminderten Assimilate-transport zur Folge hat. Es kommt zu einer Anhäufung von Kohlehydraten, die die Photosynthese behindern und so den Chlorophyllgehalt im Blatt herabsetzen (ESAU 1957; JENSEN 1969). Durch eine ebenso starke Schädigung des Wurzelsystems wird die Wasser- und Nährstoffaufnahme beeinflusst (JENSEN & D'ARCY 1995).

Die Viren des *Barley yellow dwarf*-Komplexes verursachen bei der Gerste Ertragsverluste zwischen 15 und 55 %, je nach Entwicklungsstadium und Infektionsdruck (LISTER & RANIERI 1995). Lokal kann bei sehr hohem Befall aus



wirtschaftlichen Gründen ein Umbrechen des Pflanzenbestandes sinnvoll sein. Da die Wintergerste als Keim- bzw. Jungpflanze in Abhängigkeit von den vorherrschenden Witterungsbedingungen einem hohen und langen Infektionsdruck im Herbst ausgesetzt ist, wird sie in der Regel deutlich stärker befallen als Sommergerste.

Das *Barley yellow dwarf virus* tritt periodisch epidemisch auf, was meist in einer erhöhten Vermehrungsrate und/oder Aktivität der Virusvektoren begründet ist, die stark von der Witterung beeinflusst werden (HABEKUß et al. 2009). Die Virusübertragung durch Blattläuse erfolgt persistent. Die frisch geschlüpften Larven tragen kein Virus, ebenso die Eier. Erst durch das aktive Saugen und die Virusaufnahme aus infizierten Pflanzen werden die Läuse infektiös. Ein kurzes Anstechen der Pflanzenzellen reicht für eine Virusübertragung nicht aus (DOMIER 2008). Die Viruspartikel gelangen mit dem normalen Nahrungsstrom in den Hinterdarm der Blattlaus und werden von dort aktiv durch die Darmzellen in die Körperhöhle (Hämocöl) transportiert und zirkulieren hier mit der Körperflüssigkeit (Hämolymphe) (DOMIER 2008). Erst mehrere Stunden nach dem Saugen erreicht das Virus mit der Hämolymphe die Speicheldrüse, wo es durch einen Rezeptorvermittelten Transport aktiv in das Drüsenlumen gelangt. Von dort wird es mit der Speichelflüssigkeit beim Einstechen und Saugen in das Phloem der Wirtspflanze ausgeschieden. Die Phase von der Virusaufnahme bis zur ersten Virusabgabe über den Speichel wird als Latenzzeit bezeichnet und kann von einer bis zu mehreren Stunden dauern (POWER & GRAY 1995). Selektiv für die spezifische Übertragung der Virusstämme durch bestimmte Blattlausarten wirkt insbesondere die Membran der Speicheldrüse (ROCHOW & PANG 1961; DOMIER 2008). Bei Nichtvektoren findet an dieser Stelle kein Transport der Viruspartikel statt.

Einen Einfluss auf die Vektoraktivität und damit die Virusverbreitung haben die Tagesmitteltemperatur, Niederschläge, Windgeschwindigkeit sowie die Dichte des Pflanzenbestandes (HABEKUß et al. 2002; HUTH et al. 2002).

Eine direkte Bekämpfung des Virus in der Pflanze ist aufgrund des Fehlens eines eigenen Stoffwechsels der Viren nicht möglich. In der Praxis wird die Verbreitung des BYDV indirekt durch die Bekämpfung der Vektoren mittels Insektiziden kontrolliert. Entscheidend bei dieser Art der Bekämpfung ist der zeitnahe Insektizeinsatz sobald erhöhter Blattlausflug in der Kultur auftritt. Wenn dies nicht möglich ist, z. B. das Feld

aufgrund von hoher Bodenfeuchte nicht befahrbar ist oder bei kalter Witterung das Mittel unwirksam bleibt, kann somit eine Infektion nicht verhindert werden.

Bedeutsam für die Höhe der Ertragsverluste ist das Entwicklungsstadium der Pflanze zum Zeitpunkt der Infektion. Je früher die Infektion stattfindet, desto stärker wird die Pflanze geschädigt. Durch immer frühere Aussaaten der Winterkultur in der Praxis verlängert sich die mögliche Befallsperiode für die Vektoren und das Risiko einer Herbstinfektion der Jungpflanze bzw. Keimpflanze steigt. Zusätzlich traten in den vergangenen Jahren häufig längere Wärmeperioden im Herbst und Winter auf, wodurch es noch im November und Dezember zu Infektionen kommen konnte. Des Weiteren begünstigen diese Bedingungen die anholozyklische Überwinterung der Blattläuse, was einen früheren Blattlausbefall, deutlich höhere Vermehrungsraten und damit eine stärkere Virusausbreitung im Frühjahr zur Folge hat. Im Jahr 2001 kam es aufgrund von milden Temperaturen im Herbst zu einer starken BYDV-Infektion. HABEKUß et al. (2009) stellten in diesem Jahr in Wintergerstenfeldern in Sachsen-Anhalt eine durchschnittliche Befallsrate von 30 % fest. 2002 stieg der mittlere Befall nach einem wiederum milden Herbst auf 45 %. Bei dauerhaftem Eintreten der prognostizierten Klimaveränderungen in Mitteleuropa wird sich voraussichtlich der Infektionsdruck durch BYDV im Herbst weiter erhöhen und zu steigenden Befallsraten im Feld führen.

Durch die Ähnlichkeit der BYDV-Symptome mit jenen von *Wheat dwarf virus* oder auch abiotischem Stress, wie Nährstoffmangel oder Trockenheit, ist eine visuelle Differenzierung schwierig. Daher werden zur Unterscheidung der Symptomursachen verschiedene Methoden verwendet. Der BYDV-Nachweis ist mit Übertragungsversuchen durch Blattläuse, mit virusspezifischen Antikörpern oder durch PCR-basierte Methoden möglich. In der ursprünglichen Testmethode wird versucht, das Virus von möglicherweise infizierten Pflanzen durch den entsprechenden spezifischen Vektor auf gesunde Testpflanzen zu übertragen, um durch eine Symptomausprägung nach drei bis vier Wochen gegebenenfalls die Bestätigung zu erhalten. ROCHOW (1959) hat durch erste kontrollierte Übertragungsversuche zur Entwicklung dieser Methode beigetragen. Der Nachweis von Viruspartikeln oder Teilen der Virushülle ist serologisch mit dem ELISA (*Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay*) im Pflanzensaft möglich (CLARK & ADAMS 1977). Standardtechnik ist der DAS- (*Double Antibody sandwich*-) ELISA unter Verwendung polyklonaler Antikörper (D'ARCY & HEWINGS 1986). Der mittels DAS-ELISA bestimmte Virusgehalt zeigt in

der Regel keinen Zusammenhang mit der Symptomausprägung bei anfälligen und toleranten Genotypen (BANKS et al. 1992; SCHEURER et al. 2001). Eine Virusresistenz hingegen kann durch ELISA nachgewiesen werden, da der Virusgehalt in diesem Fall deutlich reduziert oder nicht nachweisbar ist. PCR-basierte Methoden beruhen auf dem Nachweis von Virus-Erbgut. Bei RNA-Viren, wie dem BYDV, wird in einer Reverse Transkriptase (RT)-PCR komplementäre cDNA synthetisiert, die in der PCR mit virusspezifischen Oligonukleotiden zum qualitativen oder quantitativen (Real-Time PCR) Nachweis herangezogen wird (FABRE et al. 2003). Durch die Nutzung der Sequenzunterschiede zwischen den verschiedenen Virusarten/-stämmen ist in der PCR eine Unterscheidung dieser möglich (FABRE et al. 2003).

### **1.1.2 Resistenz bzw. Toleranz gegenüber BYDV**

Die heute verwendeten Begriffe „immun“, „resistent“, „tolerant“ und „anfällig“ für die Interaktionen zwischen Wirtspflanze und Virus gehen weitgehend auf die von COOPER und JONES (1983) vorgeschlagenen Definitionen zurück. Wenn Pflanzen nicht von einem Virus infiziert werden können, werden sie als „immun“ (qualitative Resistenz) bezeichnet. Ist eine Infektion, sowie die Vermehrung und/oder Verbreitung des Virus im Vergleich zu „anfälligen“ Pflanzen nur begrenzt möglich, wird dies als „resistente“ Reaktion (quantitative Resistenz) gewertet. Eine „tolerante“ Reaktion der Pflanze äußert sich durch keine oder nur geringe Effekte der Virusinfektion auf die Vitalität der Pflanze, wobei im Virustiter kein signifikanter Unterschied im Vergleich zu nicht toleranten Pflanzen besteht. Im Gegensatz dazu kommt es bei einer „anfälligen“ (sensitiven) Wechselbeziehung zu einer starken Reaktion der Pflanze, die sich in den typischen Virussympptomen zeigt. Resistenz kann auf verschiedenen Mechanismen beruhen. Sie kann bedingt werden durch passive Strukturen, die eine Infektion behindern, oder in einer Resistenz gegenüber dem Virusvektor (Pilze, Insekten, Nematoden) begründet sein, aber auch durch eine Limitierung der Verfügbarkeit von für die Virusreplikation notwendigen Wirtsfaktoren zustande kommen. Ebenso kann eine hypersensitive Reaktion der Pflanze zu einer Resistenz durch Verhinderung der Ausbreitung der Viruspartikel führen (COOPER & JONES 1983). DEADMAN (2006) gibt einen Überblick über die Formen von Krankheitsresistenz und deren Auswirkungen auf die Epidemiologie von Pathogenen.

In der Gerste (*Hordeum vulgare*) konnten bisher mehrere Quellen für Resistenzen bzw. Toleranzen gegenüber dem *Barley yellow dwarf virus* identifiziert werden.

In der kalifornischen Sommergerste 'Rojo' wurde das rezessive Resistenzgen *ryd1* (*yd1*) nachgewiesen (RASMUSSEN & SCHALLER 1959; SUNESON 1955), welches aber wegen seiner nur sehr geringen Wirksamkeit in der Gerstenzüchtung kaum verwendet wurde und aufgrund der Entdeckung effektiverer Gene aktuell keine Bedeutung hat (KEGLER & FRIEDT 1993).

Des Weiteren wurde das unvollständig dominante Gen *Ryd2* (*Yd2*) in äthiopischen Landrassen identifiziert (SCHALLER et al. 1964) und in Centromernähe auf dem langen Arm von Chromosom 3H lokalisiert (COLLINS et al. 1996). PALTRIDGE et al. (1998) und FORD et al. (1998) entwickelten die eng gekoppelten PCR-basierten Marker *Ylm* bzw. *Ylp*. In Untersuchungen von OVESNA et al. (2000) an Wintergersten erwies sich nur der Marker *Ylp* als diagnostisch für *Ryd2*. Das Amplikon des CAPS-Marker *Ylp* deckt den Bereich eines Basenaustausches zwischen dem *ryd2*- und dem *Ryd2*- Allel ab. Nur im Anfälligkeitsallel (*ryd2*) ist dadurch in diesem Bereich eine Restriktionsschnittstelle für das CATG<sup>^</sup>-schneidene Enzym *NlaIII* vorhanden. Dieses Gen bedingt eine Toleranz gegenüber BYDV-PAV, aber nicht gegenüber allen Isolaten von BYDV-MAV und -RPV (heute CYDV-RPV) (BALTENBERGER et al. 1987; BANKS et al. 1992; JEFFERIES et al. 2003). Nach Untersuchungen von LARKIN et al. (1991) führt es zu einem nachweislich verringerten Virusgehalt in den Pflanzen nach der Infektion, wohingegen in Tests von BANKS et al. (1992) dies nicht bestätigt werden konnte. Der Effekt von *Ryd2* ist stark abhängig vom genetischen Hintergrund und den Umweltbedingungen, insbesondere von der Wachstumsgeschwindigkeit (CATHERALL & WILKINS 1977; SCHALLER et al. 1964; SCHALLER 1984). *Ryd2* wurde in die Sommergerstensorte 'Coracle' eingelagert (CATHERALL & WILKINS 1977) und durch Kreuzung und anschließende Rückkreuzung mit der Sorte 'Igri' entstand die Wintergerstensorte 'Vixen', die in Großbritannien als BYDV-tolerante Sorte zugelassen wurde (PARRY & HABGOOD 1986). Weitere *Ryd2*-tragende Sorten sind z. B. 'CM 67', 'Atlas 68', 'Sutter', 'Naturel', 'Franklin', 'Wysor' und 'Venus' (BROWN et al. 1988; CATHERALL et al. 1977; SCHALLER & CHIM 1969 a, b; SCHALLER et al. 1973; STARLING et al. 1987, 1994; VERTIGAN 1991), die allerdings ebenso wie die Sorten 'Vixen' und 'Coracle' aufgrund ihrer Ertragsleistung aktuell keine wirtschaftliche Bedeutung mehr haben. In Deutschland wurden bisher keine Gerstensorten mit diesem Gen zugelassen.

In der äthiopischen Gerstenlinie 'L94' konnte ein zweites wirksames Toleranzgen, *Ryd3*, auf Chromosom 6H identifiziert werden, welches circa 75 % der Varianz in der

Symptomausprägung der RIL-Population 'L94' x 'Vada' erklärt (NIXS et al. 2004). Zum Nachweis von *Ryd3* eignen sich mehrere PCR-basierte Mikrosatellitenmarker, wie HVM22, HVM14, HVM65, HVM74, Bmac0018 und Bmac0009, die mit dem Gen cosegregieren. SAYED et al. (2006) konnten in einem umfangreichen Sortenscreening z. B. in der Sorte 'Granado' das Gen *Ryd3* und in 'Laurel' neben *Ryd3* auch *Ryd2* nachweisen.

SCHOLZ et al. (2009) identifizierten in *Hordeum bulbosum* ein Majorgen auf Chromosom 3HL, das eine vollständige Resistenz gegenüber BYDV-PAV bedingt (*Ryd4<sup>Hb</sup>*). Dieses Gen stammt aus dem sekundären Genpool der Kulturgerste und ist mit negativen Eigenschaften gekoppelt. Bevor diese Resistenz in der Gerstenzüchtung genutzt werden kann, ist es daher notwendig, diese negativen Effekte, wie z. B. die Wuchsdepression bei Homozygotie des Gens, zu überwinden.

Des Weiteren wurden auf verschiedenen Chromosomen QTL (*Quantitative trait loci*) identifiziert, u. a. von SCHEURER et al. (2001) auf Chromosom 2H und 3H. Hierbei erklärte der QTL auf Chromosom 2H in der DH-Linien-Population 'Post' x 'Vixen' 19 % der Varianz im relativen Kornertrag pro Pflanze nach experimenteller BYDV-Infektion, wobei das positive Allel von der Sorte 'Post' stammt. Den Chromosomenbereich des QTL von 15,3 cM flankieren der SSR-Marker HVCSG und der RAPD-Marker W20H480, wobei der erste für den Nachweis herangezogen werden kann. Der QTL auf Chromosom 3H wurde im Bereich des aus der Sorte 'Vixen' stammenden *Ryd2*-Gens detektiert. TOOJINDA et al. (2000) identifizierten in den DH-Linien aus der Kreuzung 'Shyri' x 'Galena' für BYDV-MAV und -PAV verschiedene QTL auf den Chromosomen 1H, 4H und 7H, die 11 bis 20 % der phänotypischen Varianz erklärten. Ein weiteres Gen für Toleranz gegenüber BYDV konnte mittels assoziationsgenetischer Verfahren in europäischen Sommergersten auf Chromosom 2H in der Nähe des Mikrosatellitenlocus HVM54 identifiziert werden (KRAAKMAN et al. 2006).

Der primäre Genpool der Kulturgerste *H. vulgare* ssp. *vulgare* mit der Wildart *H. vulgare* ssp. *spontaneum*, sowie der sekundäre Genpool mit *H. bulbosum* stellen somit wichtige Quellen für Toleranzen/Resistenzen dar.

Im primären und sekundären Genpool des Kulturweizens (*Triticum aestivum*) konnten ebenfalls QTL und Majorgene identifiziert werden, so detektierten AYALA et al. (2002) in zwei RIL- (*Recombinant Inbred Lines*) Populationen 22 bzw. 7 QTL für Toleranz gegenüber BYDV-PAV. Darüberhinaus ist das unvollständig dominante Gen

*Bdv1* auf dem Chromosom 7D bekannt, welches eine ausgeprägte Toleranz gegenüber BYDV-MAV bedingt (SINGH 1993). Durch Introgressionen konnten Resistenzen aus verschiedenen *Thinopyrum*-Arten genutzt werden, wie das unvollständig dominante Resistenzgen *Bdv2*, das von *T. intermedium* Chromosom 7 auf das Chromosom 7DL des Weizens transferiert wurde (XIN et al. 1991). In die gleiche Region wurde später das *Bdv3*-Gen überführt (Ohm und Anderson 2007) und ein gekoppelter PCR-Marker entwickelt mit dem der Nachweis sowohl von *Bdv3* als auch *Bdv2* möglich ist (KONG et al. 2009). Ebenfalls aus *T. intermedium* stammt eine resistenzvermittelnde Introgression auf Chromosom 2A des Weizens (LARKIN et al. 1995).

In Hafer (*Avena sativa*) wurden von JIN et al. (1998) mehrere QTL für BYDV-Toleranz auf verschiedenen Chromosomen lokalisiert, die alle von der toleranten Linien IL86-5698 stammen. Drei Majorloci auf verschiedenen Kopplungsgruppen erklärten zusammen etwa 50 % der phänotypischen Varianz. Weitere QTL wurden z. B. von ZHU et al. (2003) in RILs der Kreuzung 'Ogle' x 'MAM17-5' identifiziert.

Eine Blattlausresistenz der Wirtspflanze wäre eine weitere Möglichkeit, die Pflanze vor einer Infektion mit BYDV zu schützen. In umfangreichen Screenings konnten Resistenzen gegenüber *Rhopalosiphum padi* oder *Sitobion avenae* in verschiedenen Genbankakzessionen aber auch Sorten von Gerste und Weizen identifiziert werden (GEISLER et al. 1989; PROESLER et al. 2002). Bisher konnte aber keine Kombination einer Resistenz gegenüber einer insektenübertragenen Virose mit einer Blattlausresistenz beobachtet werden (HABEKUß et al. 2000).

Neben der konventionellen Resistenzzüchtung, die auf innerhalb der Gattung oder Art vorhandene genetische Variation zurückgreift, wurden in den letzten Jahrzehnten zusätzliche gentechnische Möglichkeiten zur Übertragung und Induktion von Resistenzen gegenüber Viren und anderen Phytopathogenen entwickelt. Die Methode des sogenannte „post-transcriptional gene silencing“ (PTGS), „RNA silencing“ oder „RNA interference“ (RNAi) scheint aus einem großem Pool an Möglichkeiten, die derzeit erfolgreichste und innovativste zu sein (VARRELMANN 2006). Bei dieser Methode werden kurze Stücke von Virus-RNA, z. B. mit Hilfe von *Agrobacterium*, in das pflanzliche Genom eingeschleusst und so eine pflanzeneigene Abwehr zur Unterdrückung von Fremdgenexpressionen und damit eine virusspezifische Infektionsresistenz erzeugt, wobei die virale RNA abgebaut wird (WATERHOUSE et al. 1999). Solche transgenen Virusresistenzen konnten in den

verschiedensten Kulturen induziert werden, wie z. B. bei Tabak gegenüber dem *Grapevine leafroll-associated virus-2* (LING et al. 2008), in Weißklee gegenüber dem *White clover mosaic virus* (LUDLOW et al. 2009), in Reis gegenüber dem *Rice dwarf virus* (SHIMIZU et al. 2009) oder in Weizen gegenüber dem *Barley yellow dwarf virus-GPV* (YAN et al. 2006). Auch bei der Wirt-Pathogen-Kombination Gerste-BYDV wurden mehrere Arbeiten dazu erfolgreich durchgeführt (MCGRATH et al. 1997; WANG et al. 2000), deren Ergebnisse aber bisher keinen Weg in die praktische Pflanzenzüchtung gefunden haben.

## **1.2 Das Wheat dwarf virus (WDV)**

### **1.2.1 Charakterisierung und Verbreitung**

Das *Wheat dwarf virus* gehört zur Gattung *Mastrevirus* in der Familie der *Geminiviridae*. Es wurde erstmals in der früheren Tschechoslowakei identifiziert (VACKE 1961), später auch in weiteren europäischen Ländern (LINDSTEN et al. 1970; LAPIERRE et al. 1991; HUTH 1994; ERLUND 2007) sowie in Afrika (NAJAR et al. 2000) und Asien (XIE et al. 2007).

In Deutschland wurde das Virus von VACKE 1990 zum ersten Mal in der Nähe von Dresden gefunden, war aber vermutlich schon länger unentdeckt vorhanden (MEHNER 2005). WDV wird ausschließlich durch die Zwergzikade *Psammotettix alienus* (Dahlb.) übertragen. Mechanisch oder über Samen ist eine Übertragung nicht möglich. Bei der Saugtätigkeit wird das Virus mit dem Speichel in das Phloem der Pflanze injiziert, vermehrt sich dort und verteilt sich in der gesamten Pflanze. Der Wirtspflanzenkreis umfasst ausschließlich Vertreter der *Poaceae*. Wirtspflanzen sind neben verschiedenen Wildgräsern auch die wirtschaftlich bedeutenden Getreidearten Gerste, Weizen, Hafer und Reis (VACKE 1972). Aufgrund der Wirtsspezifität der drei bekannten Virusstämme für Gerste, Weizen oder Hafer und ausgeprägter Sequenzunterschiede, wurde von SCHUBERT et al. (2002, 2007) und KÖKLÜ et al. (2007) vorgeschlagen, diese als drei unterschiedliche Viren zu betrachten und sie als *Wheat-*, *Barley-* und *Oat dwarf virus* zu bezeichnen. RAMSELL et al. (2009) gelang durch die Verwendung von agroinfektiösen Virusklonen (gesamte oder teilweise Virussequenz transformiert in *Agrobacterium tumefaciens*) die Infektion mit einem Gerstenstamm nicht nur bei Gerste, sondern auch bei Weizen, Hafer und Reis. Dabei wurde bei der Infektion von Weizenkeimlingen mit dem Gerstenstamm zwar eine

verringerte Infektionsrate festgestellt, die Mortalität war aber erhöht. Dies lässt auf das Vorhandensein natürlicher Barrieren im Weizen gegenüber dem hochvirulenten Gerstenisolat schließen, die aber in Einzelfällen überwunden werden können. Auch unter natürlichen Bedingungen konnten einzelne Infektionen von Weizen mit dem Gerstenisolat beobachtet werden (SCHUBERT et al. 2007).

Die einzelsträngige zirkuläre Virus-DNA von Mastreviren umfasst 2,6 bis 2,8 kb und wird von einem ca. 18 nm langen Zwillingkapsid aus unvollständigen Ikosaedern umschlossen. Das Genom gliedert sich in die Bereiche des *Movement Proteins* (MP), *Coat Proteins* (CP) und der *Replication Proteine* (Rep und RepA), sowie eine *Long Intergenic Region* (LIR) und eine *Short Intergenic Region* (SIR) (BOULTON 2002). Die Sequenz des WDV wurde in den letzten Jahren intensiv untersucht, wohingegen über Epidemiologie und Bekämpfung verglichen mit dem *Barley yellow dwarf virus* deutlich weniger bekannt ist. In der landwirtschaftlichen Praxis werden die durch WDV hervorgerufenen Symptome aufgrund der weitgehenden Übereinstimmung und geringeren Bekanntheit von WDV noch häufig dem BYDV zugeordnet.

Zu den Symptomen zählen eine Verzweigung der Pflanzen durch Stauchung der Sprosse, Sprengelung bis Vergilbung der Blätter, verringerte Anzahl an ährentragenden Halmen, taube Ähren und verzögertes Ährenschieben mit steckenbleibenden Ähren. Zum Teil wurde eine stärkere Bestockung beobachtet, was zum typisch buschigen Aussehen der Pflanzen führt, ebenso wurden Deformationen an jungen Blättern festgestellt. Bei Infektionen im 2- bis 3-Blattstadium kommt es zu einer sehr starken Symptomausprägung mit negativem Einfluss auf die Winterhärte und den Ertrag, wohingegen bei einer Infektion nach dem Schossen nur noch mit leicht verkürzten Trieben zu rechnen ist. Im Weizen kann es auch zu Rotfärbungen kommen. LINDBLAD und WAERN (2002) beobachteten in schwedischen Winterweizenfeldern mittlere Ertragsverluste von 35 % mit Einzelwerten von bis zu 90 %. Sie stellten außerdem einen Zusammenhang zwischen den Parametern pfluglose Bodenbearbeitung, früher Aussattermin sowie niedrige Bestandesdichte und einem erhöhten Infektionsrisiko mit WDV her. Eine chemische Vektorenbekämpfung wie es bei BYDV praktiziert wird, ist hier durch die höhere Mobilität der Vektoren und geringere Effektivität der Insektizide nur bedingt wirksam (HUTH 2002; HABEKUß et al. 2009).

Das Virus wird durch *Psammotettix alienus* persistent übertragen, d. h. eine einmalige Virusaufnahme durch die Zikade reicht aus, um über Monate während der



Saugtätigkeit Virus abzugeben, wobei sich das Virus im Vektor nicht vermehrt. Kurzes Anstechen und Saugen an Nicht-Phloemzellen von weniger als einer Minute ist zur Virusaufnahme ausreichend (MEHNER 2005). Zwischen der Aufnahme von Viruspartikeln und erstmaliger Virusabgabe liegt eine Latenzzeit, die einen bis mehrere Tage betragen kann. Nach VACKE (1961) sind alle fünf Entwicklungsstadien von *P. alienus* in der Lage WDV zu übertragen. MEHNER et al. (2003) konnten dies bestätigen, wobei sich in ihren Übertragungstests die Larvenstadien IV und V als ineffizienteste Überträger (23 % bzw. 9 %) herausstellten, im Gegensatz zu früheren Larvenstadien und den Imagines (42 - 50 %). *P. alienus* bildet in der Regel zwei Generationen pro Jahr aus. MANURUNG et al. (2005) konnten im Jahr 2000 bei warmer Witterung sogar drei Generationen beobachten. Meist treten die ersten Imagines Ende Mai auf und die der zweiten Generation Ende Juli. Bei Frost unter  $-5\text{ }^{\circ}\text{C}$ , der in der Regel im November eintritt, sterben die Tiere ab. Die Überwinterung findet als Ei statt (ALLA et al. 2001; MANURUNG et al. 2005). ALLA et al. (2001) beobachteten einen negativen Effekt auf die Entwicklung der Larven, Lebensdauer und Fruchtbarkeit von *P. alienus* bei Anwesenheit von *Rhopalosiphum padi*, wobei Futtermangel als Faktor ausgeschlossen werden konnte. Es wird eine durch die Blattläuse in der Wirtspflanze ausgelöste Reaktion als Ursache vermutet.

Der Nachweis des *Wheat dwarf virus* kann einerseits durch Übertragungsversuche mit dem natürlichen Vektor auf gesunde Wirtspflanzen geführt werden, andererseits können Viruspartikel im Pflanzensaft mit dem DAS-ELISA unter Nutzung WDV-spezifischer Antikörper detektiert werden. Eine serologische Unterscheidung der Virusstämme ist nur unter Verwendung von aufwändig herzustellenden monoklonalen Antikörpern möglich, die derzeit kommerziell aber nicht zur Verfügung stehen. Schon geringe Mengen an Virus-DNA können mittels der PCR-Technik (*Polymerase Chain Reaction*) stammspezifisch nachgewiesen werden. Hierfür müssen zur Primerableitung allerdings spezifische Sequenzinformationen vorliegen.

### 1.2.2 Resistenz bzw. Toleranz gegenüber WDV

Bisher sind keine genetisch lokalisierten Resistenzen bzw. Toleranzen in der Gerste gegenüber *Wheat dwarf virus* bekannt. VACKE und CIBULKA (2000, 2001) testeten 40 Winterweizensorten und 13 Wintergerstensorten mit Hilfe von im Freiland gefangenen adulten *P. alienus*, die mehrere Tage zur Virusaufnahme auf infizierten Weizen- bzw. Gerstpflanzen gehalten wurden. Hierbei erwiesen sich alle Akzessionen als anfällig bis hochanfällig (100% Ertragsverlust). HABEKUß et al. (2009) evaluierten 248 Wintergersten-Akzessionen und -sorten nach experimenteller WDV-Infektion, wobei sich nur die Sorte 'Post' und drei Linien, die aus einer Kreuzung mit 'Post' hervorgegangen waren, als tolerant erwiesen.

In zwei ungarischen Winterweizensorten konnten BENKOVICS et al. (2010) eine partielle Resistenz gegenüber dem WDV nachweisen. In den Sorten 'Mv Dalma' und 'Mv Vekni' wurde hierbei weder durch experimentelle Inokulation mit Hilfe von *P. alienus*, noch durch Inokulation mit Virusgenom-tragenden Agrobakterien eindeutige Symptome hervorgerufen. In der Real-Time PCR zeigte sich zudem bei beiden Sorten ein deutlich geringeres Signal als bei den anfälligen Vergleichssorten.

### 1.3 Methoden zur Erfassung von Virusresistenz

Genotypen zeigen Virusresistenz oder -toleranz, wenn ihre Vitalität durch den Virusbefall nicht in dem Maße beeinflusst wird wie die der anfälligen Genotypen, d. h. die Virussymptome geringer ausfallen oder ganz ausbleiben (COOPER & JONES 1983). Eine Infektion durch *Barley yellow dwarf virus* zeigt sich an der Gerste z. B. durch sehr vielfältige Symptome. SCHEURER (2001) untersuchte in BYDV-PAV-Resistenztests an Gerste u. a. die Merkmale Kornertrag je Pflanze, Ährenzahl je Pflanze, Tausendkorngewicht (TKG), Kornzahl je Ähre, Wuchshöhe und Entwicklungszeit bis zum Ährenschieben. Sie schlussfolgerte, dass der relative Kornertrag, d. h. der Ertrag der infizierten Variante relativ zum Ertrag der gesunden Variante des gleichen Genotyps, als Summe aller physiologischen Prozesse ein sehr geeigneter Parameter zur Bewertung der agronomischen Leistungsfähigkeit nach BYDV-Infektion ist. NIKS et al. (2004) hingegen stützten sich in ihrer Bewertung der BYDV-Anfälligkeit/-Resistenz hauptsächlich auf die allgemeine Symptomausprägung und den Virusnachweis im ELISA. Bei WDV berechneten HABEKUß et al. (2009) aus der beobachteten Symptomausprägung nach WDV-Inokulation einen sog. „degree of

attack“, um das getestete Material untereinander vergleichen zu können. Zur Analyse einer *Barley stripe mosaic virus*-Resistenz berücksichtigten EDWARDS und STEFFENSON (1995) die Zeitspanne bis zum Symptomausbruch und nutzten den ELISA zur Bestimmung der Virusextinktion. WERNER et al. (2003) beurteilten die BaYMV und BaMMV-Resistenz des untersuchten Materials ebenfalls neben der Symptomausprägung durch die Verwendung des ELISAs.

Um aussagekräftige Ergebnisse im Resistenztest erzielen zu können, sind zudem Infektionsraten von nahe 100 % notwendig. Aufgrund des unzureichenden natürlichen Infektionsdrucks durch BYDV ist in der Regel eine experimentelle Inokulation notwendig. Für BYDV-Resistenzuntersuchungen von Gerste werden meist Pflanzen im Keimlingsstadium mit virustragenden Blattläusen besiedelt und nach mehreren Tagen Inokulationszeit mit einem Insektizid behandelt (BANKS et al. 1992; SCHEURER et al. 2001; NIKS et al. 2004). Die Inokulation mit *Wheat dwarf virus* durch virustragende Zikaden (*Psammotettix alienus*) gestaltet sich durch die Mobilität der Vektoren deutlich aufwändiger (HABEKUß et al. 2009).

Neben dem natürlichen Befall und dem Einsatz natürlicher Vektoren gibt es weitere Wege, um Pflanzen mit Viren zu infizieren. Die mechanische Übertragung ohne die natürlichen Vektoren, wie sie bei bodenbürtigen Mosaikviren genutzt wird, die in der Natur durch einen Bodenpilz übertragen werden, ist bei den insektenübertragenen Viren BYDV und WDV bisher nicht möglich (ROCHOW & BRAKKE 1964; VACKE 1961).

Unter Verwendung von *Agrobacterium tumefaciens* als Vektor können Virussequenzen in Pflanzen eingeschleust werden um eine Virusinfektion auszulösen. YOON et al. (2011) gelang die Agroinfektion zweier *Nicotiana*-Arten mit BYDV-PAV- und CYDV-RPV-Klonen und die Übertragung von Tabak auf Hafer mit Hilfe von Blattläusen. WOLLSTON et al. (1988), HAYES et al. (1988) und BENDAHDANE et al. (1995) erstellten agroinfektöse Klone von WDV und infizierten damit Weizenpflanzen. Ebenfalls unter Verwendung von agroinfektösen Virusklonen gelang RAMSELL et al. (2009) die Infektion mit einem Gerstenisolat des WDV bei Gerste (Infektionsrate 5,7 bzw. 28,6 %), Weizen (0,5 bzw. 11,1 %), Hafer (6,1 %) und Reis (4,3 %). Die Verwendung der Agroinfektion zur Übertragung von BYDV und WDV ist sehr aufwändig und derzeit noch nicht ausreichend effizient, und daher nicht praktikabel für umfangreiche Resistenztests.

## **1.4 Molekulare Marker und genetische Karten als Grundlage für die Gerstenzüchtung**

BECKER (2011) definiert einen Marker als „eine leicht erkennbare Eigenschaft, die nichts mit dem eigentlichen Zielmerkmal zu tun hat, aber mit diesem gekoppelt vererbt wird oder zumindest eng assoziiert ist.“ Von besonderer Bedeutung sind heute die molekularen Marker. Die Identifikation solcher Marker beruht auf Polymorphismen in der DNA-Sequenz (Basenfolge) zwischen Individuen. Molekulare Marker sind ein wichtiges Werkzeug zur Lokalisierung, zum Nachweis und zur Selektion von z. B. Krankheitsresistenzen in der Züchtung (Beispiele siehe 1.5). Auf der Basis einer Vielzahl solcher molekularer Marker können zudem genetische Karten erstellt werden, die die Kopplung mehrerer Loci zueinander aufzeigen. Im Gegensatz zu physikalischen Karten, bei denen die genaue Abfolge und die Abstände in Basenpaaren angegeben werden, wird in genetischen Karten die Rekombinationsfrequenz zwischen den Loci bestimmt. In der Kopplungsanalyse wird hierbei die genetische Distanz zweier Loci über die Rekombinationsrate ermittelt und in der Einheit Centi Morgan (cM) dargestellt, wobei 1 cM einer Rekombinationshäufigkeit von 1 % entspricht. Gängige Funktionen zur Berechnung von genetischen Kopplungskarten gehen z. B. auf HALDANE (1919) und KOSAMBI (1944) zurück.

Den Grundstein zur Erstellung von genetischen Kopplungskarten legte Thomas Hunt Morgan am Anfang des 20. Jahrhunderts mit der Vermutung von Rekombinations- oder Crossing over-Ereignissen in der Meiose und der Annahme eines Zusammenhanges der Häufigkeit der Ereignisse mit dem Abstand der Gene auf dem Chromosom (LOBO & SHAW 2008).

Die Gerste ist als Selbstbefruchter für solche molekulargenetischen Untersuchungen durch ihre leicht zu unterscheidenden sieben Chromosomen und das diploide Genom gut geeignet (KLEINHOF 2000 zitiert in PILLEN 2001). Mit etwa  $5,3 \times 10^9$  bp ist das Gerstengenom deutlich kleiner als das des Weizens (ca.  $18 \times 10^9$  bp), aber größer als das von Reis (ca.  $430 \times 10^6$  bp; BENNETT & LEITCH 1995). In der vergleichenden Genomforschung konnte eine hohe Syntenie der Gerste zum Weizen aber auch zu Reis, *Sorghum* und *Brachypodium* festgestellt werden, welche insbesondere für die hochauflösende Kartierung genutzt werden kann. Ein hilfreiches Werkzeug für die Erstellung von genetischen Karten und zur Identifikation von Genen bzw. QTL sind doppelhaploide Linien (DHs), die durch ihre Homozygotie die Auswertung der Markeranalysen stark vereinfachen und eine zuverlässige und

wiederholbare phänotypische Testung ermöglichen (CHOO et al. 1985; PALMER & KELLER 2005). Eine Standardmethode zur DH-Herstellung ist die Mikrosporenkultur, in der aus Pollen generierte haploide Pflanzen durch eine Colchicin-Behandlung zu Doppelhaploiden werden (PALMER & KELLER 2005). Bei der Gerste können Haploide außerdem über die sogenannte *Bulbosum-Technik* erzeugt werden, bei der nach der Kreuzung mit *H. bulbosum* die Chromosomen der Wildart eliminiert und nach einer Embryorescue die haploiden Embryos *in-vitro* zu Pflanzen kultiviert werden (KASHA & KAO 1970).

Die ersten Kopplungskarten von Gerste (GRANER et al. 1991; HEUN et al. 1991), wurden unter Verwendung von RFLP-Markern (*Restriction Fragment Length Polymorphism*; BOTSTEIN et al. 1980) erstellt. Diese auf DNA-Hybridisierung beruhende Technik wurde nach der Erfindung der PCR (Polymerase-Ketten-Reaktion) aber bald durch die weniger aufwändige und schnellere AFLP-Technik (*Amplified Fragment Length Polymorphism*; VOS et al. 1995; MEUDT & CLARKE 2007) ersetzt, die durch einen Amplifikations-Zwischenschritt zudem mit weniger DNA auskommt. HORI et al. (2005) und QI et al. (1998) erstellten zum Beispiel Kopplungskarten, die hauptsächlich auf AFLPs beruhen. Die PCR (SAIKI 1985, 1988) eröffnete damit neue Wege für die Untersuchungen der DNA. Hierbei werden mit Hilfe von Oligonukleotiden (Primer) und DNA-Polymerase während eines Temperaturwechsels in mehreren Zyklen Fragmente genomischer DNA vervielfältigt und so nachweisbar. Anschließend gewannen im Zuge der Weiterentwicklung der Sequenzierungstechnik weitere Markerarten an Bedeutung. Die auch als Mikrosatelliten bezeichneten *Simple Sequence Repeats* (SSRs) oder *Short tandem repeats* (STRs) sind aneinander gereihete Wiederholungen einer Basenfolge von eins bis sechs Nukleotiden, die bei Eukaryonten im ganzen Genom in nicht codierenden Bereichen zufällig verteilt vorkommen (TAUTZ & RENZ 1984). Für die Gerste sind bereits hunderte an SSRs bekannt, auch aufgrund der fortgeschrittenen Sequenzierung des Gerstengenoms. Gersten-SSRs wurden u. a. von LIU et al. (1996), PILLEN et al. (2000), RAMSAY et al. (2000) und LI et al. (2003) identifiziert, lokalisiert und in Kopplungskarten verwendet. VARSHNEY et al. (2007) entwickelten durch die Kombination von sechs unabhängigen genetischen Karten der Kreuzungen 'Igri' x 'Franka' (GRANER et al. 1991), 'Steptoe' x 'Morex' (KLEINHOFES et al. 1993), Oregon Wolfe Barleys (OWB; COSTA et al. 2001), 'Lina' x *H. spontaneum* 'Canada Park' (RAMSAY et al. 2000), 'L94' x 'Vada' (QI et al. 1998) und 'SusPtrit' x 'Vada'

(JAFARY et al. 2006) eine Consensuskarte aus insgesamt 775 SSR-Loci mit einer Länge von 1068 cM und einem durchschnittlichen Markerabstand von 1,38 cM. SSRs haben weiterhin eine besondere Bedeutung als Ankermarker bei der Erstellung von Kopplungskarten. Grund dafür sind der hohe Polymorphiegrad und die ausgeprägte Locuspezifität, sowie die codominante Vererbung (HAYDEN et al. 2008).

Weitere auf Sequenzierung basierende Marker sind STS (*Sequence Tagged Sites*; MANO et al. 1999; BLAKE et al. 1996), CAPS (*Cleaved Amplified Polymorphic Sequence*) und SNPs (*Single Nucleotide Polymorphisms*), welche auf Sequenzunterschieden durch Insertionen, Deletionen oder Basenaustausche beruhen und als Sequenzlängenunterschiede (STS), Restriktionsfragmente (CAPS) oder durch Sequenzierung bzw. Chip-Analysen nachgewiesen werden können. Basis für die Identifizierung solcher Polymorphismen sind zunehmend die sogenannten *Expressed Sequence Tags* (ESTs). Dies sind Nucleotidsequenzen, welche durch Reverse Transkriptase von mRNA gewonnen werden und in Datenbanken zur Verfügung stehen, wie z. B. in HarvEST (<http://harvest.ucr.edu>; SATO et al. 2009). SATO et al. (2009) konstruierten aus 2890 EST-basierten Markern eine hochdichte Karte der DH-Population 'Haruna Nijo' x 'H602' und stellten eine Verbindung zu Sequenzinformationen von Weizen und Reis her. STEIN et al. (2007) nutzten vorhandene Markerdaten der DH-Populationen 'Igri' x 'Franka' (GRANER et al. 1991), 'Stephoe' x 'Morex' (KLEINHOFs et al. 1993) und der Oregon Wolfe Barleys (COSTA et al. 2001), ergänzten diese mit weiteren SSR- und SNP-Markern, und konstruierten so eine Karte mit 1055 Loci und einer Länge von 1118,3 cM und zeigten mit Hilfe der verwendeten EST-SSRs Homologien zwischen Gerste und Reis auf. Eine noch detailliertere Klärung der Syntenie zwischen Gerste und Reis erreichten CLOSE et al. (2009) durch Nutzung der inzwischen hochdurchsatzfähigen SNP-Technologie, die die Erstellung von hochdichten Kopplungskarten der Gerste erlaubt und in der Genotypisierung zunehmend an Bedeutung gewinnt. Durch den technologischen Fortschritt im Bereich der Genomforschung ist die Hochdurchsatz-SNP-Markertechnik attraktiv für den Einsatz in der markergestützten Selektion (*Marker Assisted Selection*, MAS) in der Züchtung (RAFALSKI 2002; CLOSE et al. 2009). Als Hochdurchsatzanwendung stehen bereits SNP Array Technologien (z. B. Illumina, Affymetrix) zur Verfügung (OLIPHANT et al. 2002; LaFramboise 2009). Eine weitere effektive Hochdurchsatztechnologie ist die *Diversity Array Technology* (DArT; JACCOUD et al. 2001), die aber im Gegensatz zu dem SNP-Array keine co-dominante

Auswertung zulässt, allerdings ohne Sequenzinformationen auskommt, weshalb sie besonders für Arten mit großem Genom und geringer Sequenzabdeckung, geeignet ist (WENZL et al. 2004).

### **1.5 Resistenzgene und QTL für die markergestützte Selektion auf Virusresistenz in Gerste**

Mit der Methode der markergestützten Selektion kann auf bestimmte Merkmale selektiert werden, ohne dass Kenntnisse über den Phänotyp vorliegen, allein durch DNA-Analysen mit molekularen Markern. Hierdurch kann der Zuchtgang durch eine Vorauswahl im Labor deutlich verkürzt werden und die oftmals aufwändige und kostenintensive Phänotypisierung auf ein Mindestmaß beschränkt werden.

Einen Überblick über kartierte monogene Resistenzen (*major resistance genes*) gegenüber bedeutenden Gerstenpathogenen gibt ORDON (2009). Beispiele für Virusresistenzen bei der Gerste sind die bereits genannten Gene *Ryd2* (COLLINS et al. 1996; PALTRIDGE et al. 1998; FORD et al. 1998), *Ryd3* (NIKS et al. 2004) und *Ryd4<sup>Hb</sup>* (SCHOLZ et al. 2009) gegenüber dem *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) auf den Chromosomen 3H und 6H, für die PCR-basierte Marker vorhanden sind. Das *Rsm*-Gen (EDWARDS & STEPHENSON 1996) auf Chromosom 7HS bewirkt eine Resistenz gegen *Barley stripe mosaic virus* (BSMV). Eine große Anzahl an Resistenzgenen wurde gegenüber *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV) und *Barley mild mosaic virus* (BaMMV) identifiziert (*rym1* bis 18), wobei *Rym14<sup>Hb</sup>* (RUGE et al. 2003) und *Rym16<sup>Hb</sup>* (RUGE-WEHLING et al. 2006) aus *Hordeum bulbosum* stammen und dominant vererbt werden, während die übrigen, außer *Rym17* (KAI et al. 2012), einem rezessiven Erbgang folgen.

Neben Resistenzgenen können auch QTL für die markergestützte Selektion herangezogen werden. Eine umfangreiche Darstellung zu QTL in der Gerste für agronomische Merkmale, abiotischen und biotischen Stress geben HAYES et al. (2001). Neben den bereits genannten QTL gegenüber dem *Barley yellow dwarf virus* (siehe Abschnitt 1.1.2), konnten z. B. MIYAZAKI et al. (1999) einen QTL gegenüber dem BaYMV auf Chromosom 7HS identifizieren.

## 1.6 Pyramidisierung von Resistenzgenen

Werden Resistenzgene gegenüber einem Pathogen identifiziert und in Sorten integriert, ist damit die Züchtung auf Resistenzen gegenüber diesem Pathogen nicht abgeschlossen, da Resistenzen überwunden werden können. Von Resistenzen, die sich auf ein Gen stützen (monogen) kann in der Regel keine dauerhafte Wirkung erwartet werden, da die hohe Mutationsrate des Pathogens zu einer Selektion neuer Rassen führt, die unter günstigen Umweltbedingungen die Resistenzwirkung eines einzelnen Resistenzgens überwinden können (KIYOSAWA 1982; KLOPPERS & PRETORIUS 1997; TAKKEN & JOOSTEN 2000). Das Risiko einer Resistenzbrechung steigt dabei mit Anbaudauer und -umfang einer Sorte (SINGH et al. 2001). Um die Ertragsleistung einer Sorte weiter zu sichern, ist deshalb eine fortwährende Suche nach neuen Resistenzquellen notwendig oder die Dauerhaftigkeit der vorhandenen Resistenzen muss durch geeignete Züchtungsstrategien gesichert werden. Das Risiko für eine Mutation, die mehrere Resistenzgene zum gleichen Zeitpunkt unwirksam gegenüber dem Pathogen macht, ist geringer als bei einem einzelnen Resistenzgen. Die Methode der Kombination mehrerer Resistenzgene gegen ein Pathogen in einer Sorte/Genotyp, auch als Pyramidisierung bezeichnet, ist deshalb eine Möglichkeit, eine dauerhaftere Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Pathogen zu erreichen. Zudem kann durch die Kombination verschieden wirkender Resistenzgene das Resistenzniveau in vielen Fällen erhöht werden oder bei der Wirkung der einzelnen Gene gegenüber verschiedenen Pathogenstämmen eine Verbreiterung der Resistenz des Genotyps erreicht werden (HUANG et al. 1997; LIU et al. 2000; SINGH et al. 2001; KLOPPERS & PRETORIUS 1997).

BROWN et al. (1996) erzielten durch die Kombination mehrerer Resistenzgene ein gesteigertes Resistenzniveau der Gerste gegenüber *Rhynchosporium secalis* im Vergleich zu den einzelnen Resistenzgenen. WERNER et al. (2005) stellten zwei Strategien zur Pyramidisierung der Resistenzgene *rym4*, *rym9* und *rym11* gegen das *Barley yellow mosaic virus* (Typ 1 und 2) bzw. das *Barley mild mosaic virus* an der Gerste vor, bei denen eine bzw. zwei DH-Populationen erstellt und selektiert wurden. Als praktisches Resultat wird durch die Kombination eine verbreiterte Resistenz gegenüber diesem Virus-Komplex erwartet. WERNER et al. (2003) und LE GOUIS et al. (2004) zeigten zudem, dass in Genbankakzessionen durchaus entsprechende Gene bereits pyramidiert vorliegen können, indem sie in der Herkunft 'Chikurin Ibaraki 1' zwei Gene mit Wirksamkeit gegen BaYMV/BaYMV-2 bzw. BaMMV nachwiesen.



SAEKI et al. (1999) hingegen kombinierten gezielt *rym3* und *rym5* in einem Gersten-Genotyp. Zur Verbesserung der Widerstandsfähigkeit der Gerste gegenüber Gelbrost (*Puccinia striiformis*) pyramidierten CASTRO et al. (2003 a, b) verschiedene QTL von den Chromosomen 4H, 1H und 5H und das qualitative Resistenzgen *Rpsx*, wobei sie Mikrosatellitenmarker für die MAS nutzten. Eine verbesserte Braunrost-Resistenz (*Puccinia triticina*, Syn. *P. recondiata* f. sp. *tritici*) erreichten KLOPPERS und PRETORIUS (1997) durch die Kombination der Resistenzgene *Lr13*, *Lr34* und *Lr37* in Weizen. LIU et al. (2000) integrierten drei verschiedene Kombinationen der Resistenzgene *Pm2*, *Pm4a* und *Pm21* für Echten Mehltau (*Blumeria graminis*) mit Hilfe von molekularen Markern in die Weizensorte 'Yang158'. SAGHAI MAROOF et al. (2008) und SHI et al. (2008) kombinierten unabhängig voneinander die Resistenzgene *Rsv1*, *Rsv3* und *Rsv4* gegenüber dem *Soybean mosaic virus* in Sojabohne. Erfolgreich wurde die Methode der Pyramidierung ebenso bei Weizen gegenüber BYDV-PAV durchgeführt. Hierbei wurde eine verbesserte Toleranz bzw. quantitative Resistenz durch die Kombination von *Bdv2* und einer Introgression auf Chromosom 2 aus *Thinopyrum intermedium* erreicht (JAHIER et al. 2009). In Reis pyramidierten HUANG et al. (1997) Gene für Resistenz gegenüber der bakteriellen Blattbräune (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*), sowie HITTALMANI et al. (2000) und KOIDE et al. (2010) mehrere Gene zur Verbesserung der Reistenz gegenüber dem Reisbrand (*Magnaporthe grisea*).

Einen umfassenden Überblick zur markergestützten Pyramidierung von Resistenzgenen gegenüber verschiedenen Pathogenen an Gerste und anderen Getreidearten geben FRIEDT et al. (2003), ORDON und FRIEDT (2007) sowie JOSCHI und NAYAK (2010).

## **1.7 Zielsetzung und Vorgehen**

Ziel der vorliegenden Arbeiten war es (i) Erkenntnisse zu gewinnen, inwieweit die markergestützte Kombination verschiedener QTL (Pyramidisierung), welche Toleranz gegenüber dem aphidenübertragenen *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) bedingen, zu einer Verbesserung der Widerstandsfähigkeit der Gerste gegenüber BYDV führt, und (ii) die Genetik der Toleranz der Sorte 'Post' gegenüber dem zikadenübertragenen *Wheat dwarf virus* (WDV) aufzuklären.

Zu diesem Zweck wurden DH-Linien der Kreuzung 'RIL K4-56' (*Ryd3*) x 'Coracle' (*Ryd2*) und 'RIL K4-56' (*Ryd3*) x 'DH21-136' (*Ryd3*, QTL 2H) mit den entsprechenden molekularen Markern genotypisiert und hinsichtlich ihrer Toleranz nach Inokulation mit BYDV durch virusinfizierte Blattläuse in Feldversuchen charakterisiert. Zur Bestimmung der Toleranz wurden die Werte der infizierten Variante in Relation zu einer gesunden Kontrolle der gleichen DH-Linie gesetzt.

Zur Aufklärung der WDV-Toleranz der Sorte 'Post' wurden zwei DH-Populationen der Kreuzung 'Post' (tolerant) x 'Vixen' (nicht tolerant) zur Phänotypisierung im Feldversuch mit Hilfe von virustragenden Zikaden inokuliert und ihre Toleranz über eine Bestimmung der Wuchs- und Ertragsmerkmale ermittelt. Anschließend wurde eine genetische Kopplungskarte erstellt bzw. eine vorhandene Karte genutzt, um Quantitative trait loci (QTL) und letztendlich molekulare Marker für die WDV-Toleranz der Sorte 'Post' zu identifizieren.

## **2 Material und Methoden**

### ***2.1 Pflanzenmaterial***

Sowohl für die BYDV- als auch für die WDV-Untersuchungen wurden doppelhaploide (DH) Linien verwendet, da diese durch ihre Homozygotie eine verlässliche und wiederholbare Resistenzerfassung ermöglichen.

Um bekannte Gene für Toleranz gegenüber *Barley yellow dwarf virus* zu kombinieren, wurden Kreuzungen mit Trägern dieser Gene durchgeführt. Für die Wintergersten DH-Population wurden die Elternlinien 'RIL K4-56' (Sommergerstenlinie aus der Kreuzung 'L94' x 'Vada', *Ryd3*, Qi et al. 1998, Nix et al. 2004) und 'DH21-136' (Wintergerstenlinie aus der Kreuzung 'Post' x 'Vixen', *Ryd2*, QTL2H, SCHEURER et al. 2001) gekreuzt und für die Sommergersten DH-Population die Linie 'RIL K4-56' und 'Coracle' (Sommergerste, *Ryd2*, CATHERALL et al. 1977). Die DH-Linien wurden durch die Saatenunion Biotec GmbH (Leopoldshöhe) und die KWS Lochow GmbH (Bergen) von F<sub>1</sub>-Pflanzen dieser Kreuzungen mittels Antheren- bzw. Mikrosporenkultur erstellt. Bei der Kultivierung der aus der Gewebekultur stammenden Pflanzen im Gewächshaus erwiesen sich ca. 35 % der Regenerate als haploid. Insgesamt lagen für die Untersuchungen 470 DH-Linien der Wintergersten- und 295 DH-Linien der Sommergersten-Kreuzung vor. Zur Produktion von ausreichend Saatgut für die geplanten Versuche wurden die einzelnen DH-Linien im Gewächshaus bzw. im Freiland vermehrt. Hierbei wurden zur sicheren Erhaltung der Genotypen die Ähren durch Isoliertüten vor Fremdbestäubung geschützt. Für die Vermehrung der Wintergersten-DH-Linien im Gewächshaus war außerdem zunächst eine Vernalisation der Keimpflanzen in der Klimakammer bei 4 - 6 °C für ca. sechs Wochen notwendig, um den Übergang der Pflanzen in die generative Phase zu sichern.

Die Genotypisierung wurde bei allen vorhandenen DH-Linien durchgeführt. Für die Phänotypisierung im Feld wurden im ersten Versuchsjahr die DH-Linien ausgewählt, von denen eine ausreichende Menge an Saatgut zur Verfügung stand und im zweiten Jahr nach Möglichkeit übereinstimmende Linien an vier Standorten parallel getestet. Eine Übersicht über die Anteile der Allelkombinationen in den im Feldversuch getesteten Linien geben Tabelle 2-1 und 2-2.

Tabelle 2-1: Aufspaltung der im Feldversuch 2008 und 2009 getesteten DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' in die entsprechenden Allelkombinationen

Allelkombination	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i>	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i>	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i>	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i>
2008 und 2009	37	47	52	52

Tabelle 2-2: Aufspaltung der im Feldversuch 2007/2008 und 2008/2009 getesteten DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' in die entsprechenden Allelkombinationen

Allelkombination	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL+	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL-	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL+	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL-	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL+	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL-	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL+	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL-
2007/2008*	51	30	31	24	54	49	26	16
2008/2009*	39	23	20	20	46	36	23	13

\* erhöhte Anzahl, da nicht alle DH-Linien an allen Standorten angebaut wurden

Zur Analyse der *Wheat dwarf virus*-Toleranz der Sorte 'Post' wurden zwei Populationen doppelhaploider Linien der Kreuzung 'Post' (tolerant) x 'Vixen' (anfällig) verwendet. Die Linien der DH-Population 'Post' x 'Vixen' I (n = 79) wurden bereits von SCHEURER et al. (2001) genotypisiert und hinsichtlich ihrer BYDV-Reaktion phänotypisiert. Die Linien der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II (n = 86), die ebenfalls in Form von Saatgut und DNA-Proben am JKI (Julius Kühn-Institut, Quedlinburg) vorlagen, wurden für Arbeiten zur BYDV-Resistenz an der ehemaligen Bundesanstalt für Züchtungsforschung (BAZ) in Aschersleben produziert. Zur Erhaltung der DH-Linien der Population I fand eine Zwischenvermehrung in Quedlinburg im Freiland statt.

## 2.2 Virusinokulation

Die experimentelle Virusinokulation wurde mit den jeweiligen natürlichen Vektoren durchgeführt, die als infektiöse Zuchten unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus bzw. in Klimakammern (16 h Photoperiode 6 klx, 20 °C für die Blattlauszucht bzw. 9 klx, 25 °C für die Zikadenzucht) vermehrt wurden.

Für die Inokulation mit dem *Barley yellow dwarf virus*-Isolat PAV-Aschersleben-1 (BYDV-PAV-ASL-1) wurden circa zehn adulte Tiere von *Rhopalosiphum padi* (Traubenkirschen- oder Haferblattlaus) auf die Pflanzen im Einblattstadium ausgebracht und nach fünf Tagen Inokulationsdauer mit dem Insektizid Confidor® (Bayer Crop Science AG, Monheim; Konzentration 0,035 %ig) abgetötet.

Zur Inokulation mit dem *Wheat dwarf virus* wurden in den Gazezeltversuchen 2006/07 und 2007/08 nach dem Auflaufen der Direktaussaat im Durchschnitt eine virustragende adulte Zwergzikade (*Psammotettix alienus*) pro Pflanze im Einblattstadium unter Vlies freigelassen (Tunnelversuch). Zusätzlich wurde als weitere Infektionsquelle eine im ELISA nachweislich virusinfizierte Gerstenpflanze zwischen jede Reihe der zu infizierenden Variante gepflanzt. Nach sechs Wochen wurde das Vlies abgenommen und die Zikaden mit dem Insektizid Dantop® (Spiess-Urania Chemicals GmbH, Hamburg; Konzentration 0,038 %ig) abgetötet. Im dritten Versuchsjahr 2008/09 wurde zur Optimierung der Infektionsrate die Virusinokulation unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus in Kleingewächshäusern (ca. 53 x 34 cm) durchgeführt und die Pflanzen nach der Insektizidbehandlung ins Gazezelt ausgepflanzt. Die für die Versuche verwendeten Isolate stammten von Gerstenfeldern aus dem mitteldeutschen Raum (Höhnstedt, Zappendorf, Aschersleben und Trebitz).

### **2.3 Feldversuche**

Zur Erfassung der BYDV- und WDV-Toleranz wurden mehrere Feldversuche durchgeführt:

- Pyramidisierung der BYDV-Toleranz: Feldversuch mit je 200 Wintergersten- und Sommergersten-DH-Linien an den Versuchsstandorten Quedlinburg und Bernburg (Sachsen-Anhalt), Gudow (Schleswig-Holstein) sowie Irlbach (Bayern) in den Vegetationsperioden 2007/08 und 2008/09;
- Lokalisation der WDV-Toleranz der Sorte 'Post': Feldversuche in Quedlinburg mit der DH-Population 'Post' x 'Vixen' I (n = 79) in den drei Vegetationsperioden 2006/07 bis 2008/09, sowie 2008/09 mit der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II (n = 86).

Für die Feldversuche wurden die Wintergersten-DH-Linien nach der BYDV-Inokulation im Gewächshaus (s. o.) zusammen mit den jeweiligen Kontrollpflanzen, die parallel im Gewächshaus angezogen wurden, je nach Standort und Jahr, Ende September bis Anfang Oktober im Feld einreihig von Hand ausgepflanzt (Termine siehe Tabelle 2-3). Anlageform war eine randomisierte Blockanlage mit je 10 Pflanzen pro Reihe in den Varianten ‚inokuliert‘ (= ‚infiziert‘) und ‚nicht inokuliert‘

(= ‚nicht infiziert‘ bzw. Kontrolle) und jeweils 2 Wiederholungen (A, B) mit einem Reihenabstand von 20 cm. Am Standort Quedlinburg standen hierfür Gazezelte zum Schutz vor Insekten und Vögeln zur Verfügung.

Der BYDV-Feldversuch mit den Sommergersten-DH-Linien wurde analog zu den Wintergersten durchgeführt, mit Anzucht, Inokulation und Auspflanzen (Anfang bis Mitte April) im jeweils darauffolgenden Frühjahr (Tabelle 2-4). Am Standort Quedlinburg wurde der Versuch durch ein grobmaschiges Netz ab dem Zeitpunkt der Milchreife (BBCH 73 - 77, nach HACK et al. 1992) vor Vogelfraß geschützt.

Im ersten und zweiten Jahr der WDV-Feldversuche der DH-Linien der Population ‚Post‘ x ‚Vixen‘ I wurden je Linie 15 Körner pro Variante (‚inokuliert‘ bzw. ‚nicht inokuliert‘) Mitte September direkt ins Gazezelt ausgesät und dort die Pflanzen der Variante ‚inokuliert‘ im Tunnelversuch mit virustragenden Zikaden besiedelt. Im dritten Jahr hingegen wurden je zwölf Körner im Gewächshaus in Töpfe ausgesät und die Pflanzen auch dort inokuliert, um anschließend zusammen mit den nicht inokulierten Pflanzen ausgepflanzt zu werden. Bei diesem Versuch wurden die Pflanzen zum Schutz vor Kahlfrösten im Zeitraum Januar bis Anfang März 2009 mit Vlies abgedeckt.

An den Standorten fanden regelmäßig prophylaktische Insektizidbehandlungen der Versuche statt, um den gesamten Versuch, insbesondere die Kontrolle, vor einer spontanen Virusinfektion zu schützen. Des Weiteren wurden nach Bedarf Echter Mehltau (*Blumeria graminis*), *Rhynchosporium secalis* und Erdruppen (*Agrostis spec.*) chemisch bekämpft. Eine Aufstellung der verwendeten Pflanzenschutzmittel findet sich in Tabelle A1 (A = Anhang). Am Standort Quedlinburg wurden die Pflanzen aller Versuche durch Bambusstäbe gesichert, um das Lagern langstrohiger Linien zu verhindern. Die Ernte der Versuche erfolgte manuell.

Tabelle 2-3: Pflanz- und Erntetermine der DH-Linien ‚RIL K-56‘ x ‚DH21-136‘ für die Feldversuche an den verschiedenen Standorten

Standort	Quedlinburg	Bernburg	Gudow	Irlbach
Pflanztermin 2007/2008	09.-11.10.07	17.10.07	02.-05.10.07	25.09.07
Erntetermin 2007/2008	02.-14.07.08	15.-29.07.08	25.06.-01.07.08	13.07.08
Pflanztermin 2008/2009	29.-30.09.08	13.10.08	29.09.-01.10.08	05.10.08
Erntetermin 2008/2009	07.-13.07.09	13.-27.07.09	05.-12.07.09	20.07.09

Tabelle 2-4: Pflanz- und Erntetermine der DH-Linien 'RIL K4-56' x 'Coracle' für die Feldversuche an den verschiedenen Standorten

Standort	Quedlinburg	Bernburg	Gudow	Irlbach
Pflanztermin 2008	02.-04.04.	22.04.	09.-11.04.	03.04.
Erntetermin 2008	11.-19.08.	20.-22.08.	23.-25.07.	28.07.
Pflanztermin 2009	01.-02.04.	07.04.	31.03.-02.04.	08.04.
Erntetermin 2009	10.-14.08.	03.-06.08.	26.-29.07.	05.08.

## 2.4 Gewächshausversuche

Im Januar 2009 wurden BYDV-Übertragungsversuche im Gewächshaus mit den unterschiedlichen Genotypen der Wintergersten-DH-Linien durchgeführt, um festzustellen, ob praxisrelevante Differenzen in der Virusübertragung zwischen Linien mit niedrigen Virusgehalten und Linien mit hohen Virusgehalten bestehen. Die Auswahl der DH-Linien erfolgte anhand der ELISA-Ergebnisse aus den BYDV-Feldversuchen zur Phänotypisierung. Für die Erstinokulation mit BYDV wurden je zwanzig Keimlinge von drei toleranten Linien des Genotyps *Ryd2+Ryd3+QTL*<sup>+</sup> (BAZ-1L-335, BAZ 2L-022, BAZ 2L-146) und einer nicht-toleranten Linie *ryd2+ryd3+QTL*<sup>-</sup> (BAZ 2L-109) in Töpfe pikiert und unter kleinen Kunststoffhauben für drei Tage Inokulationsdauer mit BYDV-PAV-tragenden *Rhopalosiphum padi* besiedelt, die daraufhin mit Pirimor® (Syngenta Agro, Maintal; Konzentration 0,1 %ig) abgetötet wurden. Nach zwei und vier Wochen wurde ein DAS-ELISA durchgeführt. Nach dem zweiten Test wurden je zwei Pflanzen einer Linie mit Extinktionswerten  $E_{405} < 0,5$  bzw.  $E_{405} > 1,0$  für die Rückübertragungsversuche ausgewählt und mit virusfreien *Rhopalosiphum padi* besiedelt. Nach einer Akquisitionszeit von sieben Tagen wurden die Blattläuse (5 - 7 adulte Tiere) auf gesunde Keimlinge derselben DH-Linie mit einem Pinsel umgesetzt. Die Blattläuse der nicht-toleranten Linie wurden zudem auf Keimlinge der drei *Ryd2+Ryd3+QTL*<sup>+</sup>-Linien übertragen, die Blattläuse der toleranten Linien jeweils auf die Keimlinge der *ryd2+ryd3+QTL*<sup>-</sup>-Linie. Die Reaktion der Linien wurde vier Wochen nach dem Abtöten der Blattläuse mit Confidor® im ELISA untersucht. Der Versuch wurde zweimal wiederholt, wobei jeweils die Ursprungspflanzen aus dem ersten Durchgang als Virus-/Blattlausquellen genutzt wurden.

## 2.5 Erfassung der Toleranz der DH-Linien

Um die Reaktion der Sommergersten- und Wintergersten-DH-Linien der Pyramidisierungspopulationen gegenüber dem *Barley yellow dwarf virus* zu erfassen, wurden in den Feldversuchen verschiedene Parameter bestimmt. Im Stadium zwischen Bestocken und Schossen (BBCH 23 - 30) wurde für jedes Prüfglied in jeder Wiederholung eine vergleichende Symptombonitur zwischen den Pflanzen der Kontrolle und der inokulierten Variante durchgeführt. Eine Übersicht über die verwendete Boniturskala gibt die Tabelle 2-5. Zum gleichen Termin wurden Blattproben von Pflanzen ausgewählter DH-Linien aus der inokulierten Variante entnommen, um im DAS-ELISA den Virusgehalt (Virusextinktion) zu bestimmen. Im ersten Versuchsjahr wurden an zwei (Wintergerste; Irlbach und Quedlinburg) bzw. drei Standorten (Sommergerste; Irlbach, Quedlinburg und Bernburg) pro Versuchsstandort eine Auswahl von 24 Linien (von 200 Linien pro Kreuzung) mit je 20 Einzelpflanzen getestet. Im zweiten Versuchsjahr wurden für beide Kreuzungen an allen vier Standorten jeweils 80 Linien mit jeweils 10 Einzelpflanzen analysiert. Des Weiteren wurde für jedes Prüfglied der Termin des Ährenschiebens als der Zeitpunkt erfasst, zu dem 75 % der Ähren einer Linie das BBCH-Stadium 59 erreicht hatten. Nach Abschluss des Ährenschiebens wurde die Wuchshöhe von drei zufällig ausgewählten Pflanzen pro Linie und Wiederholung als Länge des längsten Halmes von der Erdoberfläche bis zur Ährenbasis gemessen. Bei der manuellen Ernte wurde die Anzahl Pflanzen sowie die Anzahl ährentragender Halme pro Linie und Wiederholung erfasst. Nach dem Dreschen der Ähren wurde der Kornertrag pro Linie und Wiederholung festgestellt. Der Kornertrag pro Pflanze wurde durch Dividieren des Korngewichtes durch die bei der Ernte festgestellte Pflanzenzahl pro Linie berechnet. Zur Ermittlung des Tausendkorngewichtes (TKG) wurden dreimal 100 Körner pro Linie und Wiederholung gewogen und der Mittelwert mit zehn multipliziert. Das Toleranzniveau einer Linie wurde für metrische Merkmale wie folgt ermittelt:

$$\text{Toleranz} = \frac{\text{Leistung der infizierten Variante}}{\text{Leistung der nichtinfizierten Variante}} \times 100 \%$$

Zur Erfassung der WDV-Toleranz der Populationen 'Post' x 'Vixen' I und II wurden gleichfalls die oben beschriebenen Parameter erfasst. Da die Infektionsrate der anfälligen Standardsorte in diesen Versuchen aber nur bei 50 – 70 % lag, wurden im Frühjahr alle Pflanzen der inokulierten Variante serologisch (ELISA) untersucht, um



nichtinfizierte Einzelpflanzen zu identifizieren. Die Wuchshöhe, die Ährenzahl und die Symptomexpression (Wuchsdepression) wurden bei der Ernte pro Einzelpflanze festgestellt und der Kornertrag für die Einzelpflanze aus dem Reihenertrag berechnet. Dem ELISA zufolge nichtinfizierte Pflanzen (Extinktion < 0,1) in der inokulierten Variante wurden verworfen.

Tabelle 2-5: Boniturskala zur Erfassung der Symptomausprägung nach BYDV- bzw. WDV-Infektion

Boniturnote	Symptomexpression
1	Pflanze ohne Symptome
3	Schwache Wuchsminderung, normale Bestockung, deutliche Vergilbung der Blattspitzen
5	Deutliche Wuchsminderung, reduzierte Anzahl an Bestockungstrieben und ährentragenden Halmen, kleine Ähren
7	Pflanze mit 1 bis 4 Trieben, keine Ähren oder im Hüllblatt stecken-gebliebene Ähren, Blätter als „Rosette“ am Stängelgrund
9	Pflanze abgestorben

## 2.6 DAS-ELISA

Der DAS-ELISA (*Double Antibody Sandwich – Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay*) in Anlehnung an CLARK und ADAMS (1977) wurde durchgeführt, um Rückschlüsse auf den Virusgehalt in den Pflanzen und damit auf eventuelle Effekte der BYDV-Toleranzallele ziehen zu können, und um den Infektionserfolg bei den Einzelpflanzen in den WDV-Versuchen zu überprüfen und gesunde Pflanzen zu erkennen. Für die Untersuchungen standen virusspezifische polyklonale Antikörper der JKI-Antiserumbank zur Verfügung. Die photometrische Auswertung erfolgte mit einem Plattenphotometer (Opsys MR, ThermoLabsystems, Franklin USA) bei 405 nm. Da der Grad der Gelbfärbung abhängig ist von der Antigenkonzentration in der Pflanzenprobe, kann die gemessene Extinktion als Wert für die Viruskonzentration in den getesteten Pflanzenproben herangezogen werden. Proben mit einem Extinktionswert kleiner 0,1 werden bei diesen Testsystemen als virusfrei bewertet (HABEKUß, pers. Mitteilung).

Um quantitative und reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten, wurde für alle Analysen eine standardisierte Menge an Pflanzenmaterial, Puffer, Antikörpern und Substrat verwendet, sowie stets nach standardisierter Methode vorgegangen (Beschreibung

siehe nächsten Abschnitt). Zudem wurde Pflanzenmaterial in ähnlichem Entwicklungsstadium verwendet. Pro Mikrotiterplatte wurden in allen Versuchen zusätzliche Doppelproben für den Puffer (Blank) und von nachweislich gesunden bzw. virusinfizierten Pflanzen (lyophyllisierter Pflanzensaft) als Negativ- bzw. Positiv-Kontrollen mitgeführt, um so den Erfolg des Tests bzw. die Vergleichbarkeit der Extinktionsswerte überprüfen zu können. Die Positiv-/Negativ-Kontrollen, sowie die Antikörper, die im Laufe dieser Arbeit verwendet wurden, stammten zudem jeweils aus einer Herstellungs-Charge. Zur geräteinternen Berechnung der Transmissionsminderung durch die Mikrotiterplatte und den Puffer, wurden zwei Vertiefungen je Platte als Blank nur mit Substratpuffer befüllt. Eine Quantifizierung des Virusgehaltes anhand einer Eichkurve wurde nicht durchgeführt.

Die Zusammensetzung der im DAS-ELISA verwendeten Lösungen wird in der Tabelle 2-6 beschrieben. Im Detail wurde wie folgt vorgegangen:

Der Test wurde in 96-Polystyrol-Mikrotiterplatten durchgeführt, die im ersten Schritt mit virusspezifischen Antikörpern (IgG) beschichtet wurden (Verdünnung der IgGs im Coatingpuffer 1 : 200; Inkubation für 4 h bei 37 °C). Nach der Adsorption wurden in einem anschließenden Waschschrift ungebundene Antikörper mit PBS-Tween-Waschpuffer entfernt, um eine unspezifische Reaktion auszuschließen. Jede Vertiefung wurde hierfür vollautomatisch mit einem „Washer“-Automat (MRW, DYNEX Technologies) dreimal gespült. Dieser Waschvorgang wiederholte sich zwischen jedem weiteren Testschritt. Zur Aufbereitung der Pflanzenproben wurden von je zwei Blättern der zu testenden Pflanze Blattstücke abgenommen und davon 100 mg Blattmaterial in 1ml Extraktionspuffer mit Hilfe von Quarzsand in Keramikmörsern homogenisiert. 100 µl des so aufbereiteten Pflanzensaftes wurden als Einzelprobe auf die Testplatte übertragen und über Nacht bei 4 °C inkubiert, um die Bindung der in der Pflanzenprobe enthaltenen Antigene an die Antikörper zu ermöglichen. Nach einem Waschschrift wurde die sogenannte Konjugatlösung (Verdünnung der Konjugate im Extraktionspuffer 1 : 10 000) aufgetragen, welche virusspezifische Antikörper enthält, die mit dem Enzym Alkalische Phosphatase markiert sind. Während der 4-stündigen Inkubation bei 37 °C lagern sich die markierten Antikörper an die gebundenen Antigene an. Nach einem letzten Waschschrift wurde der Substratpuffer zugegeben, der p-Nitrophenylphosphat als Substrat für das verwendete Enzym enthält. Bei Vorhandensein des Antikörper-

Antigen-Antikörper-Komplexes zeigt sich eine Gelbfärbung der Lösung durch Spaltung des Substrates in p-Nitrophenol und Phosphat. Nach einer Stunde Reaktionszeit bei Raumtemperatur wurde die Extinktion in den einzelnen Vertiefungen mit Hilfe eines ELISA-Readers (Opsys MR, ThermoLabsystems, Franklin USA) bei einer Wellenlänge von 405 nm gemessen.

Tabelle 2-6: Zusammensetzung der im ELISA verwendeten Puffer und Lösungen

	Reagenz	Absolute Menge	Konzentration
<b>Coating-Lösung</b>			
(pH 9,6)	H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	1 l	
	Natriumcarbonat Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub>	1,59 g	15 mM
	Natriumhydrogencarbonat NaHCO <sub>3</sub>	2,93 g	35 mM
	Natriumazid NaN <sub>3</sub>	0,20 g	3 mM
	IgG (BYDV-/WDV-spezifisch)	5,0 ml	0,5 %
<b>PBS-Puffer</b>			
(pH 7,2-7,4)	H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	5 l	
	Natriumchlorid NaCl	40,0 g	137 mM
	Dinatriumhydrogenphosphat-Dodecahydrat Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> x 12 H <sub>2</sub> O	14,5 g	8,1 mM
	Kaliumdihydrogenphosphat KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1,0 g	1,5 mM
	Kaliumchlorid KCl	1,0 g	2,68 mM
	Natriumazid NaN <sub>3</sub>	1,0 g	3 mM
	<b>Waschpuffer</b>		
	PBS-Puffer (s. o.)	5 l	
	Tween 20	2,5 ml	0,05 %
<b>Extraktionspuffer</b>			
	PBS-Puffer (s. o.)	1 l	
	Polyvinylpyrrolidon 25, PVP (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO) <sub>n</sub>	20,0 g	2 %
	Rinderserumalbumin oder Milchpulver	2,0 g	0,2 %
	Tween-20	0,5 ml	0,05 %
<b>Konjugatlösung</b>			
	Extraktionspuffer (s. o.)	1 l	
	Konjugat (BYDV-/WDV-spezifisch)	0,1 ml	0,01 %
<b>Substratlösung</b>			
(pH 9,8)	H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	1 l	
	Diethanolamin C <sub>4</sub> H <sub>11</sub> NO <sub>2</sub>	97,0 ml	9,5 %
	Magnesiumchlorid-hexahydrat MgCl <sub>2</sub> x 6 H <sub>2</sub> O	0,2 g	1 mM
	Natriumazid NaN <sub>3</sub>	0,2 g	3 mM
	p-Nitrophenylphosphat (p-NPP)	1,0 g	0,1 %

## **2.7 Molekulare Analysen**

### **2.7.1 DNA-Extraktion und Konzentrationsbestimmung**

Die Extraktion der genomischen DNA der DH-Linien Populationen 'RIL K4-56' x 'DH21-136' und 'RIL K4-56' x 'Coracle' wurde mit einer Minipräparations-Methode nach STEIN et al. (2001) durchgeführt. Die DNA der DH-Populationen 'Post' x 'Vixen' I und II lag bereits vor.

Die Zusammensetzung der bei der DNA-Extraktion verwendeten Lösungen wird in der Tabelle 2-7 beschrieben. Im Detail wurde wie folgt vorgegangen:

Für die DNA-Extraktion wurden ca. 300 mg frisches Blattmaterial von jeder DH-Linie im Gewächshaus geerntet und in Polyethylen-Beuteln mit 1,2 ml Extraktionspuffer (Tabelle 2-7) versetzt und mittels eines Homogenizers (manuell, Bioreba AG, Schweiz) mazeriert. Nach einer Inkubation von 60 min bei 65 °C im Trockenschrank wurde die Suspension in 2,0 ml Eppendorf-Tubes umgefüllt, 800 µl Chloroform-Isoamylalcohol (24 : 1) zugegeben und für 15 min im vollautomatischen Überkopfmischer (Heidolph REAX2) langsam durchmischt. Anschließendes 15-minütiges Zentrifugieren (10000 x g, 4 °C, Heraeus Biofuge fresco) erzeugte einen klaren Überstand, von dem 800 µl abgenommen und in ein 1,5 ml Eppendorf-Tube überführt wurden. Zur Entfernung von RNA wurde 5 µl RNase A-Lösung zugegeben und per Hand kurz überkopf gemischt und für 15 min im Wasserbad bei 37 °C inkubiert. Die Fällung der DNA fand durch Zugabe von 560 µl 70 %igen Isopropanol während manuellem langsamen Schüttelns statt. Zum Sedimentieren der DNA wurde für 10 min zentrifugiert und anschließend unter Beachtung des DNA-Pellets der Überstand abgegossen. Bei Raumtemperatur wirkte für 15 min 1 ml Waschlösung I (Tabelle 2-7) auf das Pellet, darauf folgte für 5 min Waschlösung II, die jeweils wieder abgegossen wurden. Das Pellet wurde daraufhin ca. 1 h bei Raumtemperatur getrocknet, um anschließend in 80 µl TE-Puffer (pH 8,0) gelöst zu werden. Zur Kontrolle der DNA-Qualität sowie der RNA-Freiheit wurde 1 µl der DNA auf einem 1 %igen Agarosegel überprüft.

Die DNA-Konzentrationen wurden mit dem NanoDrop ND-1000 (peqLab, Biotechnology GmbH, Erlangen) spektrophotometrisch bestimmt und betrug zwischen 900 und 3000 ng/µl. Für alle molekularen Arbeiten wurde eine Verdünnung in destilliertem Wasser von 30 bzw. 25 ng/µl verwendet, die anhand der Messwerte hergestellt wurde.

Tabelle 2-7: Zusammensetzung bei der DNA-Extraktion verwendeten Puffer und Lösungen

Reagenz	absolut	Konzentration
<b>Extraktionspuffer</b>		
Hexadecyltrimethylammoniumbromid, CTAB C <sub>19</sub> H <sub>42</sub> BrN	20g	2%
Tris / HCl (pH 8,0)	200 ml (1 M)	200 mM
Ethylendiamintetraacetat, EDTA C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	40 ml (0,5 M)	20 mM
Natriumchlorid NaCl	81 g	1,4 M
Polyvinylpyrrolidon, PVP (C <sub>6</sub> H <sub>9</sub> NO) <sub>n</sub>	10 g	1,0 %
β-Mercaptoethanol (BME)	20 ml	0,28 M
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	add to 1l	
Lösung steril filtrieren; BME unmittelbar vor Verwendung zugeben		
<b>RNase A-Lösung</b>		
Natriumacetat CH <sub>3</sub> COONa	60 µl (3M)	0,01 mM
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	18 ml	
RNase A	200 mg	10 mg/ml
Tris / HCl (pH 7,4)	2 ml	100 mM
<b>Waschlösung I</b>		
Ethanol C <sub>2</sub> H <sub>6</sub> O	760 ml	76 %
Natriumacetat CH <sub>3</sub> COONa	66,7 ml (3M)	200 mM
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	add to 1l	
<b>Waschlösung II</b>		
Ethanol		76 %
Ammoniumacetat CH <sub>3</sub> COONH <sub>4</sub>	771 mg	10 mM
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	add to 1l	
<b>TE-Puffer</b>		
Tris / HCl (pH 8,0)	10 ml (1 M)	10 mM
Ethylendiamintetraacetat, EDTA C <sub>10</sub> H <sub>16</sub> N <sub>2</sub> O	2 ml (0,5 M)	1 mM
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>	add to 1l	

## 2.7.2 Genotypisierung

### 2.7.2.1 Nachweis von *Ryd2*, *Ryd3* und QTL2H mit molekularen Markern

Für den Nachweis von *Ryd2* (SCHALLER et al. 1964) wurde der CAPS-Marker YlpCRM (FORD et al. 1998) verwendet, dessen Amplifikationsprodukt anschließend mit dem Restriktionsenzym *Hsp92* II (5'-CATG<sup>^</sup>-3', 3'-<sup>^</sup>GTAC-5') verdaut wurde. Genotypen mit dem *Ryd2*-Allel zeigen auf dem Agarosegel die PCR-Fragmentlänge von 311 bp, diejenigen mit dem Anfälligkeitsallel von 253 bp und 56 bp, da sie für das Enzym eine Schnittstelle aufweisen. Den Tabellen 2-8 bis 2-10 sind die Zusammensetzungen der PCR-Reaktionsgemische, die Thermocycler-Programme sowie die Komponenten des Enzymverdaus zu entnehmen. Der Nachweis erfolgte

nach der Auftrennung auf einem 1,5 %igen Agarosegel, wie es in Abbildung 2-1 zu sehen ist.

Tabelle 2-8: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches (10 µl-Ansatz) für YlpPCR<sub>M</sub>

Reagenz	Konzentration	Verwendete Menge
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>		4,65 µl
Polymerase-Puffer	10 x	1,00 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	2,00 µl
dNTPs	10 mM	0,40 µl
Primer YlpPCR <sub>MF</sub>	10 pmol/µl	0,13 µl
Primer YlpPCR <sub>MR</sub>	10 pmol/µl	0,13 µl
Taq DNA Polymerase (DyNAzyme)	2 U/µl	0,20 µl
DNA	25 ng/µl	1,00 µl

Tabelle 2-9: Thermocycler-Programm für YlpPCR<sub>M</sub>

Abschnitt	Temperatur	Dauer	Zyklen
Denaturierung	94 °C	30 s	40
Annealing	60 °C	30 s	
Polymerisation	74 °C	1 min	

Tabelle 2-10: Zusammensetzung der Lösung des Restriktionsverdau (20 µl-Ansatz) der PCR-Produkte von YlpPCR<sub>M</sub>

Reagenz	Konzentration	Verwendete Menge
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>		5,6 µl
Puffer G	10 x	2,0 µl
BSA	10 mg/µl	2,0 µl
Enzym <i>Hsp92</i> II	5 U/µl	0,4 µl
PCR-Produkt von YlpPCR <sub>M</sub>		10,0 µl

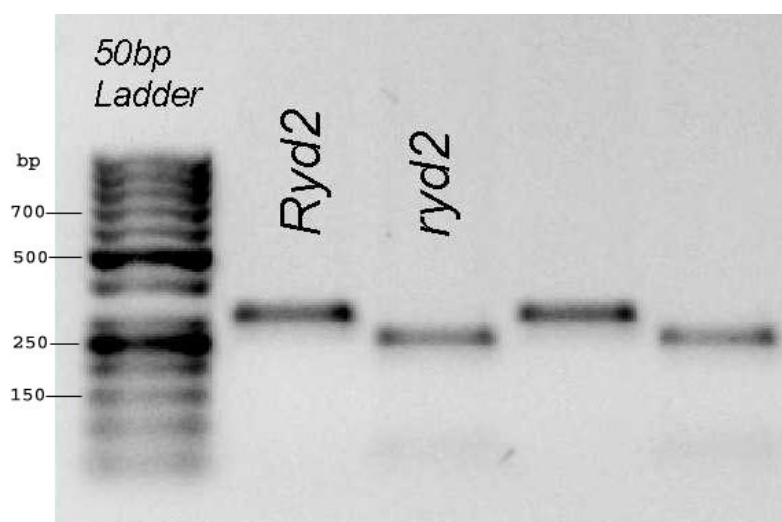


Abbildung 2-1: Fragmentgrößen der PCR-Produkte von YlpPCR<sub>M</sub> nach dem Restriktionsverdau mit *Hsp92* II

Für den PCR-Nachweis des Toleranzallels *Ryd3* (Niks et al. 2004) wurde der Mikrosatellitenmarker HVM74 (Liu et al. 1996) genutzt. Mit Hilfe einer vollautomatischen Kapillarelektrophorese (Beckman Coulter CEQ™ 8000) und einer D3-Markierung wurden die Fragmente sichtbar gemacht (Abbildung 2-2) die eine Größe von 180 bp (tolerant) bzw. 188 bp (anfällig) aufwiesen.

Für den Nachweis des QTL auf dem Chromosom 2HL (Scheurer et al. 2001) wurde der Mikrosatellitenmarker HVCSG (Becker & Heun 1995) genutzt, der ebenfalls mittels Kapillarelektrophorese und eines Cy5-markierten M13-Tails ausgewertet wurde. Hier ergaben sich bei den untersuchten Elternlinien 'DH21-136' und 'RIL K4-56' Fragmente mit einer Größe von 211 bp bzw. 219 bp (Abbildung 2-3).

Die Zusammensetzung der PCR-Reaktionsgemische sowie die Thermocycler-Programme für die Marker HVM74 und HVCSG können den nachfolgenden Tabellen 2-11 bis 2-14 entnommen werden.

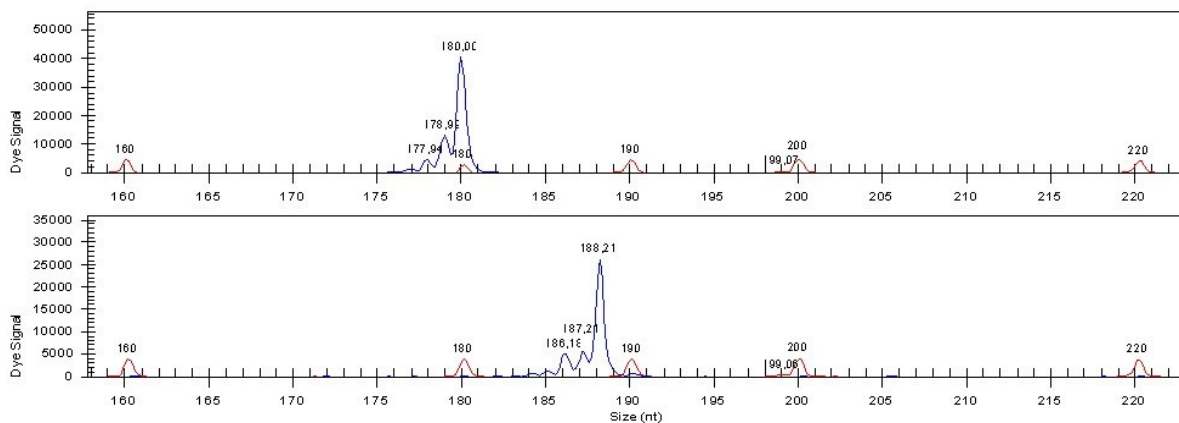


Abbildung 2-2: PCR-Produkte von HVM74 mit Kopplung zu dem Toleranzallel 180 bp (oben) und dem Anfälligkeitsallel 188 bp (unten) von *Ryd3* (Standard zur geräte-internen Berechnung der Fragmentgrößen bei 160, 180, 190, 200 und 220 bp)

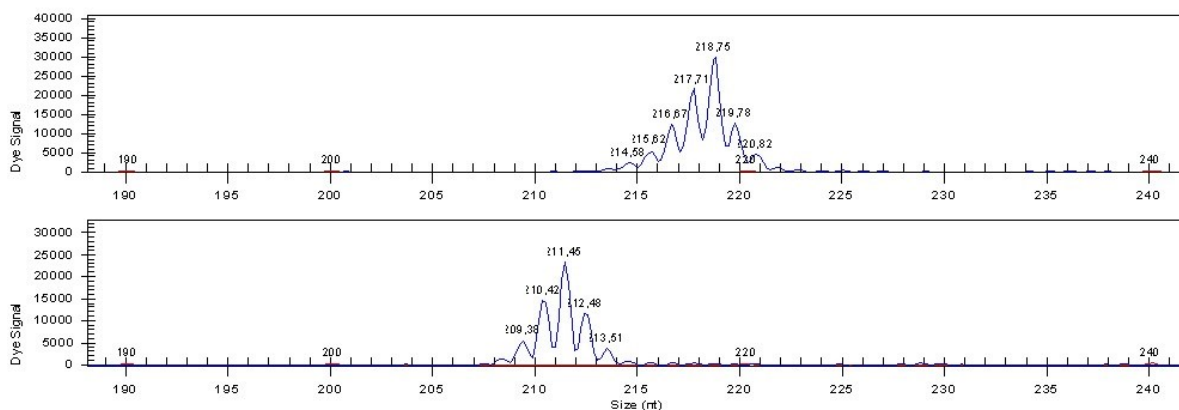


Abbildung 2-3: PCR-Produkte von HVCSG mit Kopplung zu dem Toleranzallel 219 bp (oben) und dem Anfälligkeitsallel 211 bp (unten) des QTL 2H (Standard zur geräte-internen Berechnung der Fragmentgrößen bei 190, 200, 220, 240 bp)

Tabelle 2-11: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches (10 µl-Ansatz) für HVM74

Reagenz	Konzentration	Verwendete Menge
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>		7,32 µl
Polymerase-Puffer	10 x	1,00 µl
dNTPs	10 mM	0,20 µl
Primer HVM74-F	10 pmol/µl	0,20 µl
Primer HVM74-R	10 pmol/µl	0,20 µl
Taq DNA Polymerase (Qiagen)	5 U/µl	0,05 µl
DNA	25 ng/µl	1,00 µl

Tabelle 2-12: Thermocycler-Programm für HVM74

Abschnitt	Temperatur	Dauer	Zyklen
Start-Denaturierung	94 °C	3 min	1
Denaturierung	92 °C	1 min	30
Annealing	55 °C	2 min	
Polymerisation	72 °C	1 min 30 s	
Schlusspolymerisation	72 °C	10 min	1

Tabelle 2-13: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches (10 µl-Ansatz) für HVCSG

Reagenz	Konzentration	Verwendete Menge
H <sub>2</sub> O <sub>td</sub>		3,95 µl
Polymerase-Puffer	10 x	1,00 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	0,85 µl
dNTPs	10 mM	0,15 µl
Primer HVCSG-F	0,8 pmol/µl	1,00 µl
Primer HVCSG-R	4,0 pmol/µl	1,00 µl
M13-Tail-Cy5	3,6 pmol/µl	1,00 µl
Taq DNA Polymerase (AmpliTaq Gold)	5 U/µl	0,05 µl
DNA	25 ng/µl	1,00 µl

Tabelle 2-14: Thermocycler-Programm für HVCSG

Abschnitt	Temperatur	Dauer	Zyklen
Start-Denaturierung	94 °C	9 min	1
Denaturierung	94 °C	30 s	12; -0,5°C/Zyklus
Annealing	66 - 60 °C	30 s	
Polymerisation	72 °C	1 min	
Denaturierung	94 °C	30 s	35
Annealing	60 °C	30 s	
Polymerisation	72 °C	1 min	
Schlusspolymerisation	72 °C	10 min	1



### 2.7.2.2 Markerabsättigung im Bereich des QTL auf Chromosom 2HL (BYDV)

Um für die Pyramidisierung enger gekoppelte Marker für den QTL auf Chromosom 2HL zur Verfügung zu haben, wurde eine Markerabsättigung in diesem Bereich (15,3 cM) zwischen den bekannten flankierenden Markern HVCSG und W20H480 (Abbildung 2-4, SCHEURER et al. 2001) durchgeführt. Im ersten Schritt wurden dafür acht SSR-Marker aus der betreffenden Region an den Elternlinien 'Post', 'Vixen', 'RIL K4-56', 'DH21-136' und 'Coracle' auf Polymorphismen getestet (Tabelle 2-15), die anhand der Gersten-Consensuskarte von VARSHNEY et al. (2007) ausgewählt wurden. Die vier polymorphen Markern wurden anschließend in der Population 'Post' x 'Vixen' I kartiert (SCHEUER et al. 2001). Zur weiteren Absättigung wurde die DH-Population 'Haruna Nijo' x 'H602' verwendet, die aus einer Kreuzung einer Kulturgerste ('Haruna Nijo') und einer *H. spontaneum*-Wildform ('H602') entstanden ist und in der zahlreiche ESTs identifiziert sowie SNPs kartiert wurden (SATO et al. 2009; SATO & TAKEDA 2009). Zugehöriges Saatgut und EST-Markerdaten wurden freundlicherweise von Dr. Kazuhiro Sato (Research Institute for Bioresources, Okayama University, Kurashiki, Japan) zur Verfügung gestellt. Aus den vorhandenen ESTs auf Chromosom 2H wurden nach Analyse der Population mit den bisher flankierenden Markern HVCSG und GBM1047 eine Auswahl an SNP-Markern für die interessante Region getroffen, von denen drei in den 'Post' x 'Vixen' DH-Linien-Populationen als SNP/CAPS kartiert werden konnten (k03833, k08168, k09212).

Nach der Sequenzierung der PCR-Fragmente wurden mit der Software Sequencher 4.9 (Gene Codes Corporation 2009, USA) differenzierende SNPs zwischen den Elterngenotypen detektiert. Zur Identifikation von Restriktionsenzymen für die einfache Sichtbarmachung identifizierter Polymorphismen wurden der NEBcutter V2.0 (New England Biolabs Inc., [tools.neb.com/NEBcutter2](http://tools.neb.com/NEBcutter2)) und der RestrictionMapper von TAIR (*Arabidopsis Information Resource*, [www.arabidopsis.org](http://www.arabidopsis.org)) verwendet. Die Zusammensetzung der PCR-Reaktionsgemische bzw. Restriktionsverdauung und die Thermocycler-Programme für die analysierten SSR-, SNP- bzw. CAPS-Marker sind der Tabelle 2-15 bzw. A 3 zu entnehmen. Mit allen polymorphen Markern wurden die DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' I genotypisiert und anschließend die Karte des Chromosoms 2H neu berechnet sowie eine QTL-Analyse mit dem vorliegenden Phänotyp-Datensatz von SCHEURER (2001) durchgeführt.

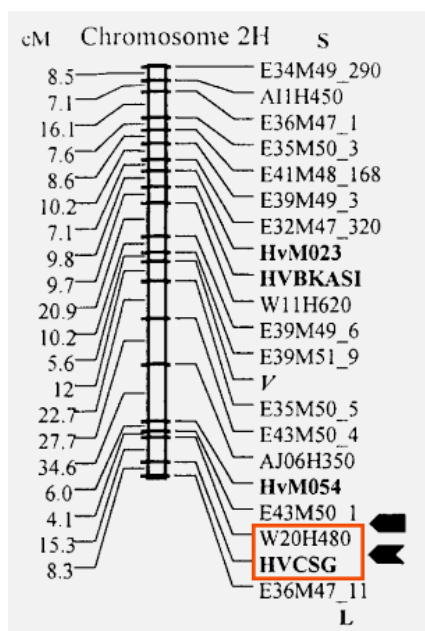


Abbildung 2-4: Kopplungskarte des Chromosoms 2H vor der Markerabsättigung (SCHEURER et al. 2001)

Tabelle 2-15: Molekulare Marker von Chromosom 2HL, die für die Markerabsättigung verwendet wurden

Marker-Bezeichnung	Marker-typ	Enzym-verdau	PCR-Ansatz *	PCR-Programm *	Sequenziert	Poly-/monomorph	Kartiert
Bmag749	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
Ebmac415	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
GBM1036	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
GBM1047	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
GBM1181	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	m	nein
GBM1309	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
GBM1421	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
GBM1437	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	m	nein
GBM1462	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	m	nein
GBM1475	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	m	nein
GBM1498	SSR	-	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
GBS105	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	m	nein
GBS379	SNP	DraI	M13	TD 62-56 30s	nein	p	ja
k00143	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	m	nein
k02419	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	m	nein
k03833	SNP	TaqI	M13	TD 64-58 30s	ja	p	ja
k04179	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	m	nein
k04545	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	m	nein
k06430	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	m	nein
k08168	SNP	BseNI	M13	TD 64-58 30s	ja	p	ja
k08891	SNP	-	M13	TD 62-56 30s	ja	p	nein
k09212	SNP	Hinfl	M13	TD 64-58 30s	ja	p	ja

\* Beschreibung der PCR-Ansätze und -Programme in Tabelle A3 (Anhang)

### 2.7.2.3 Mikrosatelliten-Analysen zur Kartierung der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II

Als Grundlage für die Durchführung von QTL-Analysen bzgl. der Toleranz gegenüber *Wheat dwarf virus* wurde eine genetische Kopplungskarte der Population 'Post' x 'Vixen' II über die sieben Chromosomen erstellt. Hierbei wurden ca. 200 SSRs und einzelne SNP-Marker (Liste siehe Tabelle A 2) auf Polymorphismen zwischen den Elternlinien untersucht, wobei nach der PCR die Kapillarelektrophorese (Beckmann Coulter CEQ 8000) genutzt wurde, um auch geringe Größenunterschiede zu erfassen. Alle 93 polymorphen Marker wurden darauffolgend in den DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' II amplifiziert und abhängig vom Größenunterschied zwischen den amplifizierten Produkten mit Hilfe der horizontalen Agarosegelelektrophorese bzw. der Kapillarelektrophorese allelspezifisch ausgewertet.

Detaillierte Angaben zur elektrophoretischen Auftrennung sind unter Punkt 8.1.3 im Anhang zu finden. Die Zusammensetzung der verwendeten PCR-Reaktionsgemische und Thermocycler-Programme für die polymorphen Marker sind der Tabelle A 3 im Anhang zu entnehmen.

## **2.8 Berechnung der genetischen Kopplungskarte**

Für die Kartierung wurde die Software JoinMap4 (VAN OOIJEN 2006) mit der Kartierungsfunktion „ML Mapping“ verwendet. Als Schwellenwert für die genetische Karte wurde ein LOD (*Logarithm of Odds*) von 3,0 festgelegt. Die cM-Abstände zwischen den Markern wurden nach der Funktion von KOSAMBI (1944) aus den Rekombinationshäufigkeiten berechnet und in den genetischen Karten der einzelnen Kopplungsgruppen dargestellt. Die Zuordnung der Kopplungsgruppen zu den Gerstenchromosomen erfolgte aufgrund von chromosomenspezifischen SSR-Markern.

## **2.9 QTL-Analysen**

Die QTL-Analysen an den Populationen 'Post' x 'Vixen' I und II wurden mit dem Programm MapQTL5 (VAN OOIJEN 2004) durchgeführt. Als genetische Grundlage wurde für die Population I die vorhandene Karte von SCHEURER et al. (2001) verwendet und für Population II eine neue Kopplungskarte erstellt. Als entsprechende phänotypische Daten wurden die prozentualen Vergleichswerte der

mit WDV infizierten Pflanzen einer DH-Linie zu nichtinfizierten Pflanzen derselben DH-Linie von Kornertrag pro Pflanze, Tausendkorngewicht, Ährenzahl pro Pflanze und Wuchshöhe herangezogen. Für die Population 'Post' x 'Vixen' I lagen zweijährige Daten und für Population II einjährige Daten vor.

Bei den QTL-Analysen wurde für eine erste Übersicht ein Interval-Mapping (IM; LANDER & BOTSTEIN 1989) durchgeführt. Die dargestellten Ergebnisse stammen aus der anschließenden MQM-Methode (*Multiple QTL model Mapping*; JANSEN 1993) mit Vorgabe von Cofaktoren. Der LOD-Schwellenwert wurde auf 3,0 festgesetzt. Weiterhin wurde der Anteil der phänotypischen Varianz, welcher von entsprechenden QTL erklärt wird, berechnet.

## **2.10 Statistische Analyse der Feld- und Gewächshausversuche**

Alle statistischen Analysen wurden mit der Software SAS 9.1 durchgeführt. Die relativen Werte der Erntedaten und Halmlängen sowie die ELISA-Extinktionen wurden mittels ANOVA und anschließendem Tukey-Test ( $\alpha = 0,05$ ) analysiert. Die ordinalskalierten Boniturnoten wurden mit Hilfe der MULTTEST-Funktion mit einer Bootstrap-Methode (NEUHÄUSER & JÖCKEL 2006) und anschließendem t-Test ausgewertet. Mit dem Shapiro-Wilk-Test wurde die Anpassung der Daten an eine Normalverteilung getestet (UNIVARIATE-Funktion). Mit der Funktion VARCOMP wurden Varianzkomponenten für die Berechnung der Heritabilität ermittelt. Die Heritabilität ( $h^2$ ) bezeichnet den durch den Genotyp verursachten Anteil an der Gesamtvarianz des Phänotyps. Hierzu wird, wie unter anderem in BECKER (2011) beschrieben, der Quotient aus der Varianz, die dem Genotyp zugeordnet werden kann, und der Gesamtvarianz gebildet. Zur Berechnung der Relativwerte der Erntedaten sowie der mittleren Halmlänge wurden Funktionen von EXCEL 2003 (Microsoft Corporation 2003) genutzt.

Einzelwerte von relativen Leistungen (der infizierten Variante) von größer als 250 % wurden als Ausreißer von der Berechnung ausgenommen, wobei sich diese Auswahl in den Merkmalen relativer Kornertrag und relative Ährenzahl weitgehend mit dem Ausreißertest nach Nalimov ( $\alpha = 5\%$ ) deckt.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 *Pyramidisierung von BYDV-Toleranzallelen in der Gerste*

##### 3.1.1 Genotypisierung der DH-Populationen

Um die phänotypische Reaktion der DH-Linien auf eine BYDV-PAV-Infektion einer Allelkonstitution zuordnen zu können, wurde die allelische Konstitution aller DH-Linien an den entsprechenden Loci mit Hilfe molekularer Marker bestimmt.

Die Kombination der Loci *Ryd2* und *Ryd3* führt in der DH-Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' zu vier möglichen Allelkombinationen, die in den 295 untersuchten DH-Linien im erwarteten Verhältnis 1:1:1:1 auftraten ( $\chi^2 = 3,04$ ; Tabelle 3-1).

Eine Abweichung von der erwarteten Aufspaltung ( $\chi^2 = 74,6$ ) wurde hingegen bei der Kombination der Loci *Ryd2*, *Ryd3* und des QTL auf Chromosom 2H in der DH-Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' festgestellt (Tabelle 3-2). Hierbei wurde eine Verschiebung des Verhältnisses zu Gunsten der DH-Linien mit den Toleranzallelen an den Loci *Ryd3* und QTL-2H beobachtet.

Tabelle 3-1: Segregation der DH-Linienpopulation 'RIL K4-56' x 'Coracle'

Allelkombination	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i>	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i>	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i>	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i>
Anzahl DH-Linien	68	66	76	85

$$\chi^2(1:1:1:1) = 3,04$$

Tabelle 3-2: Segregation der DH-Linienpopulation 'RIL K4-56' x 'DH21-136'

Allelkombination	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL+	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL-	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL+	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL-	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL+	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i> QTL-	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL+	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i> QTL-
Anzahl DH-Linien	93	49	43	37	92	76	52	28

$$\chi^2(1:1:1:1:1:1:1:1) = 74,61$$

##### 3.1.2 Phänotypisierung der DH-Population 'RIL K4-56' x 'Coracle'

Um die Reaktion der Sommergersten-DH-Linien und damit die Wirkung einer Kombination der Resistenzallele *Ryd2* und *Ryd3* erfassen zu können, wurden in den Feldversuchen verschiedene Parameter bestimmt, welche die Widerstandsfähigkeit gegenüber *Barley yellow dwarf virus* widerspiegeln.

In den Feldversuchen an den vier Standorten Quedlinburg, Bernburg, Gudow und Irlbach wurden in zwei aufeinanderfolgenden Jahren (2008, 2009) und damit in acht

Umwelten 188 DH-Linien der Kreuzung `RIL K4-56` x `Coracle`, die Elternlinien und der anfällige Standard `Vada` auf ihre Leistung in Wuchs- und Ertragsmerkmalen sowie auf den Virusgehalt nach einer Infektion mit BYDV-PAV getestet. Hierfür wurden neben den experimentell mit BYDV-PAV inokulierten Pflanzen pro DH-Linie parallel gesunde Kontrollpflanzen angezogen. Zur Feststellung des Toleranzniveaus wurden die Werte der infizierten Variante einer DH-Linie mit den Werten der Kontrolle ins Verhältnis gesetzt. Aufgrund übereinstimmender Ährencharakteristik der Elternlinien (2-zeilig, lockere Ähre) sind die Ertragsparameter Kornertrag, Ährenzahl, TKG und Kornzahl je Ähre direkt vergleichbar.

### 3.1.2.1 Agromische Merkmale der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards

Die BYDV-toleranten Elternlinien `Coracle` (*Ryd2*) und `RIL K4-56` (*Ryd3*) sowie der anfällige Standard `Vada` unterschieden sich in der relativen Leistung nach einer BYDV-Infektion zum Teil deutlich (Tabelle 3-3). So zeigten die toleranten Elternlinien bei den Ertragsparametern und der Wuchshöhe nur gering oder nicht reduzierte Leistungen im Vergleich zur nicht infizierten Kontrolle, wohingegen `Vada` lediglich 15 % der Ertragsleistung der Kontrolle erreichte und eine deutliche Verzögerung im Ährenschieben aufwies. Die Gegenüberstellung der Elternlinien und des anfälligen Standards in Abbildung 3-1 zeigt die ausgeprägte Toleranz von `Coracle` (*Ryd2*) und `RIL K4-56` (*Ryd3*) gegenüber einer BYDV-Infektion. In der ELISA-Extinktion ( $E_{405}$ ) ergaben sich zwischen `Coracle` ( $E_{405} = 1,31$ ), `RIL K4-56` ( $E_{405} = 1,31$ ) und `Vada` ( $E_{405} = 1,26$ ) keine signifikanten Unterschiede.

Tabelle 3-3: Relative Leistungen der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards `Vada` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen entsprechender Genotypen im Mittel der vier Versuchsstandorte und zwei Jahre

Merkmal	`Coracle`	`RIL K4-56`	`Vada`
Kornertrag/Pflanze [%]	94,1	116,0	8,7
Ähren/Pflanze [%]	99,6	115,1	19,9
TKG [%]	98,5	96,7	66,5
Kornzahl/Ähre [%]	96,5	101,8	58,9
Wuchshöhe [%]	98,2	99,4	62,6
Boniturnote (iV)	3,0	3,4	6,5
Verzögerung im Ährenschieben iV [Tage]	1,3	1,2	8,4

iV: infizierten Variante



Abbildung 3-1: Elternlinien 'Coracle' und 'RIL K4-56', sowie anfälliger Standard 'Vada' zum Erntetermin (je 10 Pflanzen) in den Varianten Kontrolle (hinten) und BYDV-infiziert (vorne) am Standort Quedlinburg 2009

### 3.1.2.2 Leistungsmerkmale der DH-Linien

In der DH-Population der Kreuzung 'RIL K4-56' x 'Coracle' zeigten sich aufgrund der unterschiedlichen Allele der BYDV-toleranzbedingenden Gene *Ryd2* und *Ryd3* eine erhebliche Variation in den erfassten Wuchs- und Ertragsmerkmalen nach einer Infektion mit BYDV-PAV. Ebenso gab es Unterschiede in der Leistung ohne Virusinfektion, weshalb für die Bestimmung des Toleranzniveaus die relative Leistung der infizierten Pflanzen zur Leistung der gesunden Kontrollpflanzen der jeweiligen DH-Linie herangezogen wurde. Die Absolutwerte für die untersuchten Merkmale in der nichtinfizierten Variante für die DH-Linien der verschiedenen Allelkombinationen sind der Tabelle A 4 im Anhang zu entnehmen.

Die mittlere relative Leistung der zu den verschiedenen Allelkombinationen gehörenden DH-Linien ist in der Tabelle 3-4 aufgeführt. Für die Einzelstandorte und Jahre sind die Werte im Anhang zu finden (Tabelle A 5 bzw. A 6), ebenso die dazugehörigen Varianztabelle (Tabelle A 7 bis A 13).

Tabelle 3-4: Relative Leistungen der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' in den Allelkombinationen nach BYDV-Infektion im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen für die getesteten Merkmale im Mittel der vier Standorte und der zwei Versuchsjahre

Merkmal	DH-Linien mit Allelkombination			
	<i>Ryd2</i> <i>Ryd3</i>	<i>Ryd2</i> <i>ryd3</i>	<i>ryd2</i> <i>Ryd3</i>	<i>ryd2</i> <i>ryd3</i>
Kornertrag/Pflanze [%]	116,0 a*	88,0 c	101,0 b	13,9 d
Ähren/Pflanze [%]	114,1 a	92,5 c	102,6 b	24,6 d
TKG [%]	99,1 a	95,6 c	97,2 b	70,1 d
Kornzahl/Ähre [%]	101,0ab	98,9 b	102,1 a	79,4 c
Wuchshöhe [%]	100,4 a	96,8 b	99,5 a	70,2 c
Boniturnote iV	2,4 a	3,4 c	3,2 b	6,1 d
Verzögerung im Ährenschieben iV [Tage]	1,1 c	2,1 b	2,4 b	6,2 a
ELISA-Extinktion (405nm) iV	0,54 d	1,11 a	1,05 b	0,94 c
Anteil ELISA-Extinktion < 0,1 (405nm) iV [%]	23,2	0,5	1,6	3,9

iV: infizierte Variante

\* unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen den DH-Linien-Gruppen mit verschiedenen Allelkombinationen in diesem Merkmal

Der höchste relative Kornertrag zeigte sich bei den Linien mit der Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* mit über 100 % (Tabelle 3-4). Linien mit *Ryd3* erreichten gemessen am relativen Kornertrag (+ 13 %) dabei ein höheres Toleranzniveau im Vergleich zu Linien mit *Ryd2*. Ertragsverluste von durchschnittlich 86 % ergaben sich für Linien ohne Toleranzallele, deren Leistung im Gegensatz zu allen anderen Allelkombinationen 2009 geringer war als 2008 (Tabelle A 6).

Für die relative Anzahl Ähren/Pflanze und das relative TKG ergab sich die gleiche Abstufung zwischen den Allelkombinationen wie für den relativen Kornertrag (Tabelle 3-4). Die Linien ohne Toleranzallele erreichten allerdings noch etwa 70 % des TKG der Kontrolle. In der relativen Kornzahl je Ähre und der relativen Wuchshöhe gab es keinen signifikanten Unterschied im Leistungsniveau zwischen den Linien mit *Ryd3+Ryd2* sowie den Linien mit nur dem positiven Allel am *Ryd3*-Locus. Die Linien mit Anfälligkeitsallelen an beiden Loci zeigten in diesen Merkmalen hingegen wieder eine deutliche geringere relative Leistung. Bei der Symptombonitur im Frühsommer wiesen die Linien mit der Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* im Mittel lediglich leichte Vergilbungen auf, wohingegen diese bei den Linien mit nur einem Toleranzallel deutlich ausgeprägter waren. Neben z. T. starker Vergilbung wurde bei Linien ohne Toleranzallele eine starke Beeinträchtigung des Wachstums durch die BYDV-Infektion festgestellt. Im Ährenschieben bewirkte die Virusinfektion bei den Linien aller Allelkombinationen im Mittel eine Verzögerung, die mit etwa einem Tag bei den



Linien mit beiden Toleranzallelen am geringsten ausfiel und mit etwa sechs Tagen am höchsten bei Linien ohne Toleranzallelen war. Die gemessene Extinktion im ELISA von ausgewählten Linien, die alle Allelkombinationen repräsentieren, fiel 2009 wesentlich geringer aus als 2008 (Tabelle A 6), wobei sich aber im Mittel über beide Jahren deutlich reduzierte Werte bei Linien mit beiden Toleranzallelen gegenüber Linien der anderen Allelkombinationen ergaben (Tabelle 3-4), ebenso gegenüber den Kreuzungseltern (Abbildung 3-2). Auffällig war zudem ein mit 23 % deutlich erhöhter Anteil an Pflanzen mit Extinktionen  $E_{405} < 0,1$  bei Linien mit der Kombination *Ryd2* und *Ryd3*.

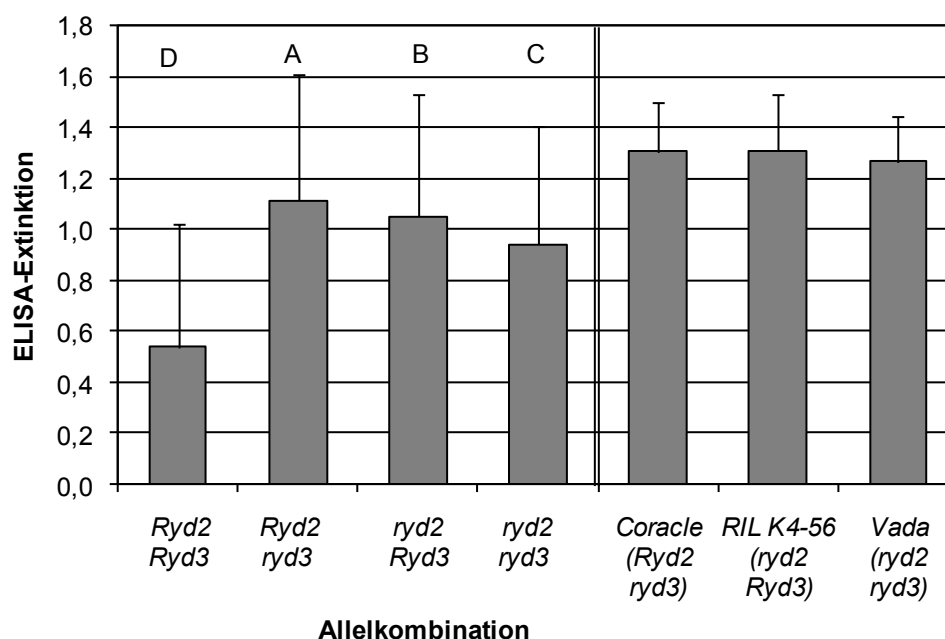


Abbildung 3-2: Mittelwerte und Standardabweichung der ELISA-Extinktionen (405 nm) der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' in Abhängigkeit von der Allelkombination am *Ryd2* und *Ryd3*-Locus, sowie der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards 'Vada' (4 Standorte, 2 Jahre); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in der ELISA-Extinktion ( $\alpha = 0,05$ )

In der Berechnung der Korrelationen zeigte sich ein enger Zusammenhang zwischen dem relativen Kornertrag und der relativen Ährenzahl ( $r = 0,93$ ; Tabelle 3-5). Eine nur geringe Abhängigkeit ergab sich für die Merkmale relative Kornzahl pro Ähre, Differenz im Ährenschieben und ELISA-Extinktion zu allen anderen Merkmalen (tolerante Linien mit hoher ELISA-Extinktion und gleichzeitig hohem Ertrag sind hier auch enthalten). Für die Boniturnote, das Ährenschieben sowie die ELISA-Extinktion war die Korrelation zu den Ertragsmerkmalen und der Wuchshöhe negativ. Für die Kombination relative Kornzahl pro Ähre mit ELISA-Extinktion ergab sich keine

Korrelation. Eine Anpassung an die Normalverteilung zeigte sich bei der Einbeziehung aller Standorte ausschließlich in den absoluten Werten des TKG in der nicht infizierten Variante bei den Daten von 2009 und beiden Jahren (Kolmogorov-Smirnov-Test).

Die Berechnung der Heritabilität mit den geschätzten Varianzkomponenten ergab eine hohe Erbllichkeit ( $h^2 = 0,90$ ) für den relativen Kornertrag, die relative Ährenzahl und die relative Wuchshöhe nach BYDV-Infektion (Tabelle 3-6).

Tabelle 3-5: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Sommergersten DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `Coracle´ nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen in den erfassten Merkmalen über die vier Versuchsstandorte und zwei Jahre

Merkmal	Kornertrag/ Pflanze [%]	Ähren/ Pflanze [%]	TKG [%]	Kornzahl/ Ähre [%]	Wuchs- höhe [%]	BN inf. Var.	Differenz Ähren- schieben
Ähren/Pflanze [%]	0,93						
TKG [%]	0,67	0,54					
Kornzahl/Ähre [%]	0,50	0,25	0,35				
Wuchshöhe [%]	0,69	0,68	0,59	0,40			
Boniturnote (BN)	-0,77	-0,74	-0,63	-0,41	-0,64		
Differenz Ähren- schieben [Tage]	-0,35	-0,34	-0,26	-0,31	-0,34	0,35	
ELISA-Extinktion	-0,36	-0,33	-0,24	-	-0,25	0,43	0,26

Signifikant mit  $\alpha = 0,05$ ; nach Spearman

Tabelle 3-6: Schätzwert der operativen Heritabilität ( $h^2$ ) für die relativen Werte der untersuchten Merkmale bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `Coracle´ nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen, erfasst an vier Standorten und in zwei Jahren

Merkmal	$h^2$
Ertrag/Pflanze [%]	0,90
Ähren/Pflanze [%]	0,93
TKG [%]	0,81
Kornzahl/Ähre [%]	0,64
Wuchshöhe [%]	0,91
Differenz Ährenschieben [Tage]	0,41
ELISA-Extinktion	0,74
Anteil Pflanzen mit Extinktion $\leq 0,1$	0,56

### 3.1.3 Phänotypisierung der DH-Population `RIL K4-56` x `DH21-136`

Um den Effekt der einzelnen Allelkombinationen von *Ryd2*, *Ryd3* und des QTL auf Chromosom 2H gegenüber BYDV zu ermitteln, wurden die Wintergersten-DH-Linien in Feldversuchen mit und ohne Inokulation mit BYDV-PAV analysiert. Analog zu den Sommergersten-DH-Linien wurden im Feldversuchen an den vier Standorten Quedlinburg, Bernburg, Gudow und Irlbach 2008 und 2009 ebenso 188 DH-Linien der Kreuzung `RIL K4-56` x `DH21-136`, deren Elternlinien und der anfällige Wintergersten-Standard `Rubina` auf ihre Leistung in Wuchs- und Ertragsmerkmalen sowie auf die Virusextinktion nach einer Infektion mit BYDV-PAV getestet.

#### 3.1.3.1 Leistung der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards

Die BYDV-toleranten Elternlinien `DH21-136` (*Ryd2*, QTL 2H) und `RIL K4-56` (*Ryd3*) sowie der anfällige Standard `Rubina` zeigten unterschiedliche Leistungen nach einer Infektion mit BYDV-PAV (Tabelle 3-7). Nach der BYDV-Inokulation wurde in fast allen Merkmalen bei `DH21-136` eine geringfügig höhere relative Leistung als bei `RIL K4-56` festgestellt, wohingegen die BYDV-anfällige Sorte `Rubina` mit 2 % relativem Ertrag und 50 % relativer Wuchshöhe sehr starke virusbedingte Depressionen aufwies, die sich auch im Ährenschieben und in der Symptombonitur zeigten. Zum Ährenschieben kamen die Linien `DH21-136` und `RIL K4-56` in der nichtinfizierten Variante zum gleichen Termin (Ø 10. Mai) und auch mit Virusinokulation ergab sich bei beiden Linien nur eine geringe Verzögerung gegenüber der Kontrolle. Hingegen war das Ährenschieben nach Inokulation beim anfälligen Standard `Rubina` im Mittel neun Tage später.

Tabelle 3-7: Relative Leistungen der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards `Rubina` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Mittel der vier Versuchsstandorte und zwei Jahre

Merkmal	`DH21-136`	`RIL K4-56`	`Rubina`
Kornertrag/Pflanze [%]	107,9	102,9	2,1
Ähren/Pflanze [%]	108,2	103,9	8,5
TKG [%]	102,1	99,1	51,4
Kornzahl/Ähre [%]	100,0	100,1	34,9
Wuchshöhe [%]	97,9	97,0	50,1
Boniturnote iV	2,4	2,7	7,4
Verzögerung im Ährenschieben iV [Tage]	1,5	0,9	9,2

iV: infizierte Variante

### 3.1.3.2 Leistungsmerkmale der DH-Linien

Durch die Kombination verschiedener Allele der Loci *Ryd2*, *Ryd3* und des QTL 2H in den DH-Linien wurden im Feldversuch unterschiedliche Leistungen in den erfassten Merkmalen nach der Infektion mit BYDV-PAV festgestellt. Durch das Entstehen neuer Allelkombinationen wurden auch DH-Linien mit von den Eltern deutlich differenzierenden Leistungen beobachtet. Die absoluten Werte der gesunden Kontrollen für die DH-Linien der verschiedenen Allelkombinationen sind der Tabelle A 14 im Anhang zu entnehmen. Einen Überblick über die relative Leistung der DH-Linien der acht Allelkombinationen in den erfassten Merkmalen in den Feldversuchen 2007/2008 und 2008/2009 gibt die Tabelle 3-8, die Werte für die verschiedenen Standorte und Jahre sind dem Anhang zu entnehmen (Tabelle A 15 bzw. A 16). Die dazugehörigen Varianztabellen der Analysen sind in den Tabelle A 17 bis A 24 im Anhang dargestellt.

In allen Merkmalen zeigte sich eine deutliche Abstufung zwischen der Leistung der Linien mit mindestens einem der Toleranzallele *Ryd2* oder *Ryd3* und Linien ohne diese. In letzterer Gruppe konnte ein Zugewinn an Leistung/Toleranz durch das positive Allel des QTL auf Chromosom 2H beobachtet werden. In Kombination mit *Ryd2* und/oder *Ryd3* konnte außer bei der ELISA-Extinktion keine weitere Verbesserung des Toleranzniveaus durch den QTL 2H festgestellt werden. Im relativen Kornertrag pro Pflanze ergaben sich signifikante Unterschiede zwischen den Linien mit der Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* (105 - 106 %) sowie Linien mit nur *Ryd2* (94 %), wohingegen sich Linien mit nur *Ryd3* (100 - 101 %) von beiden Gruppen nicht unterschieden. Linien mit nur dem QTL von Chromosom 2H und ohne Toleranzallele zeigten hingegen sehr stark ausgeprägte Ertragseinbußen durch die Infektion mit BYDV. Bei Vorhandensein des QTLs wurde allerdings ein mehr als doppelt so hoher relativer Kornertrag je Pflanzen beobachtet im Vergleich zu Linien ohne Toleranzallele.

Tabelle 3-8: Relative Leistungen der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' in den Allelkombinationen nach BYDV-Infektion im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Mittel der acht Umwelten (4 Standorte, 2 Jahre)

Merkmal	DH-Linien mit Allelkombination							
	<i>Ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>ryd3</i>
	<i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd2</i> QTL-	<i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd2</i> QTL-	<i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd2</i> QTL-	<i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd2</i> QTL-
Kornertrag/Pflanze [%]	106,1 a	105,2 a	93,8 b	93,6 b	99,8 ab	101,4 ab	43,1 c	19,5 d
Ähren/Pflanze [%]	108,8 a	108,7 a	99,5 b	101,3 ab	106,0 ab	105,4 ab	54,2 c	31,7 d
TKG [%]	99,5 a	100,2 a	99,1 a	98,9 a	99,5 a	99,3 a	87,1 b	80,6 c
Kornzahl/Ähre [%]	101,4 a	100,2 a	96,5 ab	94,3 b	97,6 ab	100,9 a	79,5 c	62,1 d
Wuchshöhe [%]	98,9 a	99,0 a	98,3 a	97,7 a	97,9 a	98,1 a	86,5 b	72,3 c
Boniturnote iV	2,5 a	2,6 ab	2,9 c	3,2 c	3,0 c	2,9 bc	4,4 d	5,5 e
Verzögerung im Ährenschieben iV [Tage]	0,5 d	0,6 cd	1,0 cd	1,2 c	1,0 cd	1,0 cd	2,6 b	3,6 a
Auswinterung [%]	99,2 a	104,1 a	103,5 a	102,0 a	101,5 a	103,0 a	99,6 a	103,4 a
ELISA-Extinktion (405nm) iV	0,23 g	0,30 f	0,96 d	1,06 c	0,76 e	1,02 c	1,23 a	1,14 b
Anteil ELISA-Extinktion < 0,1 (405nm) iV [%]	71,1	59,4	14,8	4,9	4,7	1,7	2,1	1,8

iV: infizierte Variante

\* unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede zwischen den DH-Linien-Gruppen mit verschiedenen Allelkombinationen in diesem Merkmal

In den Merkmalen relative Ährenzahl, relative Kornzahl pro Ähre, der Symptomausprägung und der Differenz im Ährenschieben verhalten sich die DH-Linien tendenziell ähnlich wie im Kornertrag, die Unterschiede sind zum Teil signifikant (Tabelle 3-8). Zwischen den Linien mit *Ryd2+Ryd3* und den Linien mit den jeweiligen einzelnen Toleranzallelen ergab sich im relativen Kornertrag und der relativen Wuchshöhe kein Unterschied. Die Auswinterungsrate liegt in allen Allelkombinationen bei der infizierten Variante und der Kontrolle im gleichen Bereich von +/- 4 %. Bei der Testung ausgewählter Linien aller Allelkombinationen im DAS-ELISA wurden für 2007/2008 deutlich höhere Extinktionen gemessen (Tabelle A 16). In beiden Jahren wurde übereinstimmend eine stark reduzierte Extinktion bei den Linien mit den Toleranzallelen *Ryd2* und *Ryd3* festgestellt, wohingegen Linien mit nur einem oder keinem dieser Allele auf einem deutlich höheren Niveau lagen

(Abbildung 3-3). Bei einem zusätzlichen Test im Herbst waren die Extinktionen über alle Allelkombinationen noch deutlich niedriger als im Frühjahr, mit Ausnahme der Kombination ohne Toleranzallele, bei der die Extinktion im Laufe des Wachstums nicht weiter zunahm. Des Weiteren wurde in der Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* mit 65 % eine deutlich erhöhte Anzahl von virusfreien Pflanzen ( $E_{405} < 0,1$ ) gezählt im Vergleich zu den anderen Allelkombinationen (1,7 - 14,8 %). Auch nach dem Ausschließen dieser virusfreien Proben aus der Verrechnung blieben die signifikanten Unterschiede zwischen den Allelkombinationen bestehen.

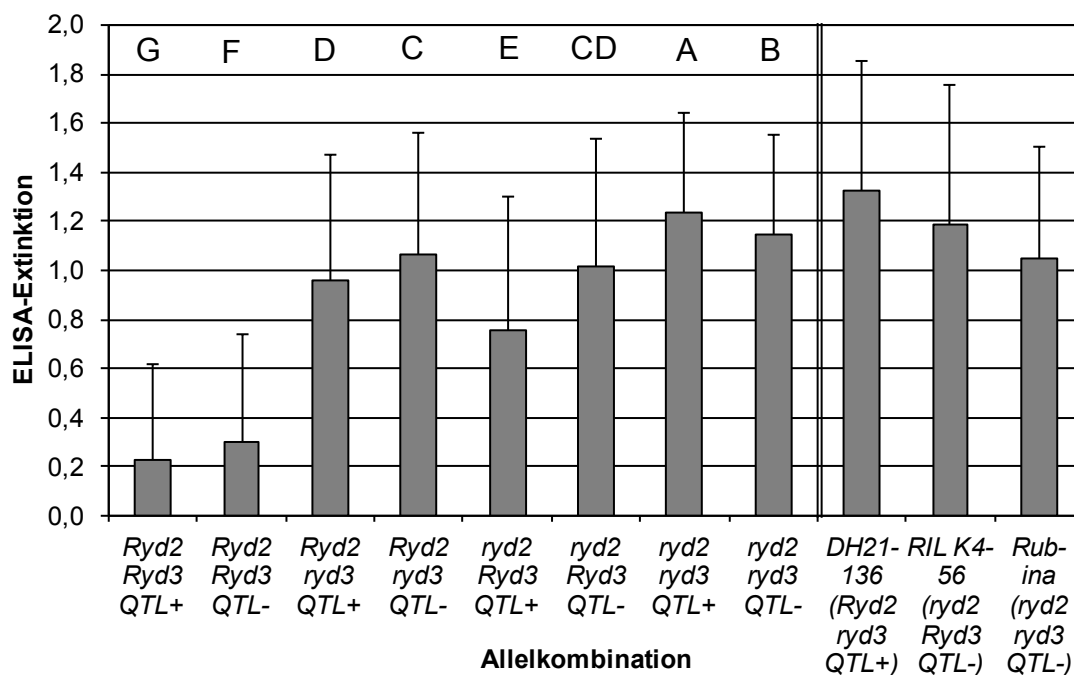


Abbildung 3-3: Mittelwerte und Standardabweichung der ELISA-Extinktionen (405 nm) der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' in Abhängigkeit von der Allelkombination am *Ryd2*-, *Ryd3*- und QTL-2H-Locus, sowie der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards 'Rubina' (4 Standorte, 2 Jahre); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in der ELISA-Extinktion ( $\alpha = 0,05$ )

Die Berechnung der Korrelation zwischen den Merkmalen zeigte einen starken Zusammenhang zwischen dem relativen Kornertrag und der relativen Ährenzahl ( $r = 0,91$ ), wohingegen die Werte aller anderen Merkmale wesentlich geringer korrelierten (Tabelle 3-9). Weiterhin wurde zwischen der ELISA-Extinktion und dem relativen Kornertrag eine negative Korrelation mit  $r = -0,62$  festgestellt.

In den Häufigkeiten der relativen Leistung der DH-Linien zeigte sich beim Kornertrag 2009 in Quedlinburg, bei der Halmlänge in Bernburg und Irlbach im Mittel beider Versuchsjahre sowie bei der Ährenzahl in verschiedenen Versuchen an den

Standorten Quedlinburg, Bernburg und Gudow eine Anpassung an die Normalverteilung (Kolmogorov-Smirnov-Test). Ebenso normalverteilt waren die Absolutwerte für die Merkmale Kornertrag pro Pflanze und Ährenzahl pro Pflanze der nicht infizierten Kontrolle über alle Standorte und Jahre. Eine hohe Heritabilität ( $h^2 = 0,85$  bis  $0,89$ ) über alle Versuche wurden für die Merkmale relativer Kornertrag, relative Ährenzahl, ELISA-Extinktion und Anteil an virusfreien Pflanzen ( $E_{405} \leq 0,1$ ) ermittelt (Tabelle 3-10).

Tabelle 3-9: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Wintergersten DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen in den erfassten Merkmalen über vier Versuchsstandorte und zwei Jahre

Merkmal	Kornertrag/ Pflanze [%]	Ähren/ Pflanze [%]	TKG [%]	Korn- zahl/ Ähre [%]	Wuchs- höhe [%]	BN inf. Var	Ähren- schieben Differenz
Ähren/Pflanze[%]	0,91						
TKG [%]	0,39	0,28					
Kornzahl/Ähre [%]	0,57	0,30	0,18				
Wuchshöhe [%]	0,44	0,48	0,24	0,34			
Boniturnote (BN)	-0,44	-0,39	-0,24	-0,37	-0,40		
Differenz Ähren- schieben [Tage]	-0,22	-0,20	-0,07	-0,22	-0,19	0,29	
Auswinterung [%]	-	-	-	-	-0,05	0,08	0,15
ELISA-Extinktion	-0,62	-0,57	0,50	-0,56	-0,44	0,63	0,54

Signifikant mit  $\alpha = 0,05$ ; nach Spearman

Tabelle 3-10: Schätzwert der operativen Heritabilität ( $h^2$ ) für die relativen Werte der Merkmale bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen, erfasst an vier Standorten und in zwei Jahren

Merkmal	$h^2$
Ertrag /Pflanze [%]	0,89
Ähren /Pflanze [%]	0,88
TKG [%]	0,82
Kornzahl /Ähre [%]	0,84
Wuchshöhe [%]	0,89
Differenz Ährenschieben	0,71
ELISA-Extinktion	0,85
Anteil Pflanzen mit Extinktion $\leq 0,1$	0,85

### 3.1.4 Übertragungsversuch mit BYDV-PAV im Gewächshaus

Um epidemiologische Konsequenzen eines verringerten Virustiters durch die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* zu untersuchen, wurden Gefäßversuche im Gewächshaus durchgeführt. Mit Hilfe von Blattläusen wurden anfällige und quantitativ resistente DH-Linien mit BYDV-PAV inokuliert, im ELISA getestet, und

anschließend die Übertragung durch Blattläuse von diesen infizierten Pflanzen auf gesunde Keimlinge untersucht.

Die an den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' durchgeführten Übertragungsversuche mit BYDV-PAV im Gewächshaus bestätigten die Beobachtungen aus den Feldversuchen durch ausgeprägte Unterschiede in der ELISA-Extinktion zwischen quantitativ resistenten (*Ryd2/Ryd3/QTL*<sup>+</sup>) Linien und anfälligen Linien ohne Toleranzallel (*ryd2/ryd3/QTL*<sup>-</sup>). Die Extinktion in der „Ziel“-Pflanze, auf die das Virus durch Blattläuse übertragen wurde, ist unabhängig vom der Virusextinktion in der „Donor“-Pflanze (Abbildung 3-4; Tabelle A 25), von der die „virusfreien“ Blattläuse das Virus aufgenommen haben. Zum Beispiel ausgehend von einer Pflanze mit einer ELISA-Extinktion von 0,26 bzw. 1,66 zeigte eine Linie mit drei Toleranzallelen Extinktionswerte von 0,48 bzw. 0,25, wohingegen bei der Übertragung auf eine Linie ohne Toleranzallele eine mittlere Extinktion von 1,38 bzw. 1,19 gemessen wurde. Die erhobenen Daten geben also keinen Hinweis darauf, dass eine geringere Virusübertragung von quantitativ resistenten Pflanzen (*Ryd2/Ryd3/QTL*<sup>+</sup>), die geringere Extinktionswerte zeigen, erfolgt.

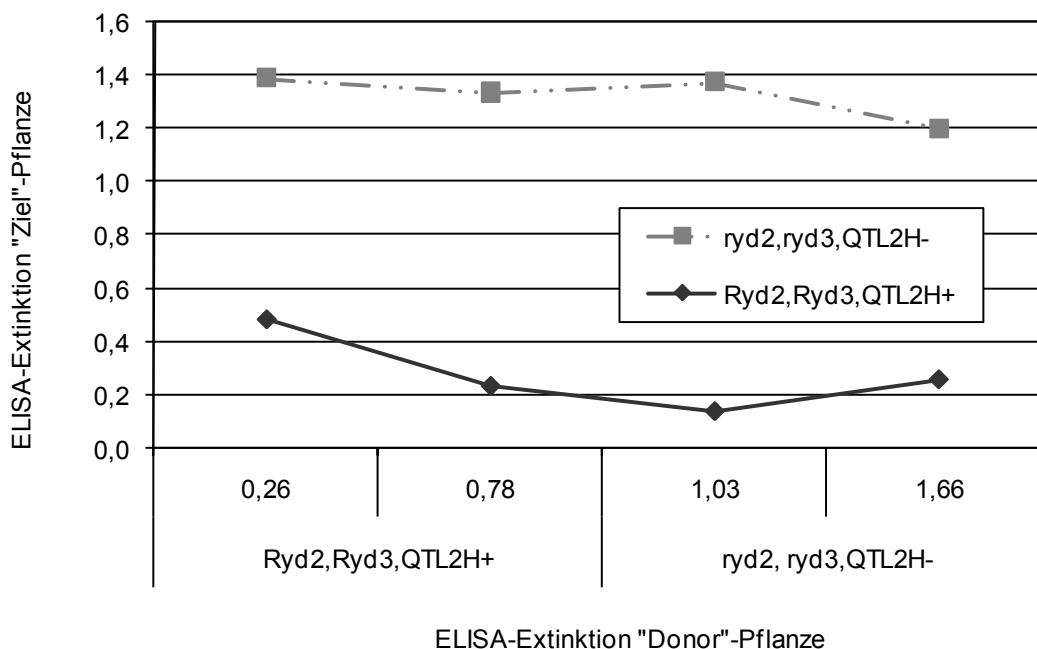


Abbildung 3-4: ELISA-Extinktionen vier Wochen nach der BYDV-PAV Übertragung in Abhängigkeit vom Genotyp und der Extinktion der Virusquelle („Donor“-Pflanze)



### 3.1.5 Markerabsättigung QTL 2HL (BYDV)

Um für die Pyramidierung enger gekoppelte Marker für den QTL auf Chromosom 2HL zur Verfügung zu haben, wurde in diesem Bereich eine Markerabsättigung durchgeführt.

In die Kopplungskarte von SCHEURER et al. (2001) konnten weitere 11 Marker auf Chromosom 2HL integriert werden (Abbildung 3-5). Zwischen die bisher den QTL flankierenden Marker W20480 und HVCSG (SCHEURER et al. 2001) konnten die zwei SSR Marker GBM1498 und GBM1047 kartiert werden. Eine erneute QTL-Analyse bestätigte HVCSG als den am besten geeigneten Marker zum Nachweis des QTL. Der zweite flankierende Marker ist GBM1047. Somit konnte der Markerabstand von ursprünglich 15,3 cM auf 8,6 cM verringert werden.

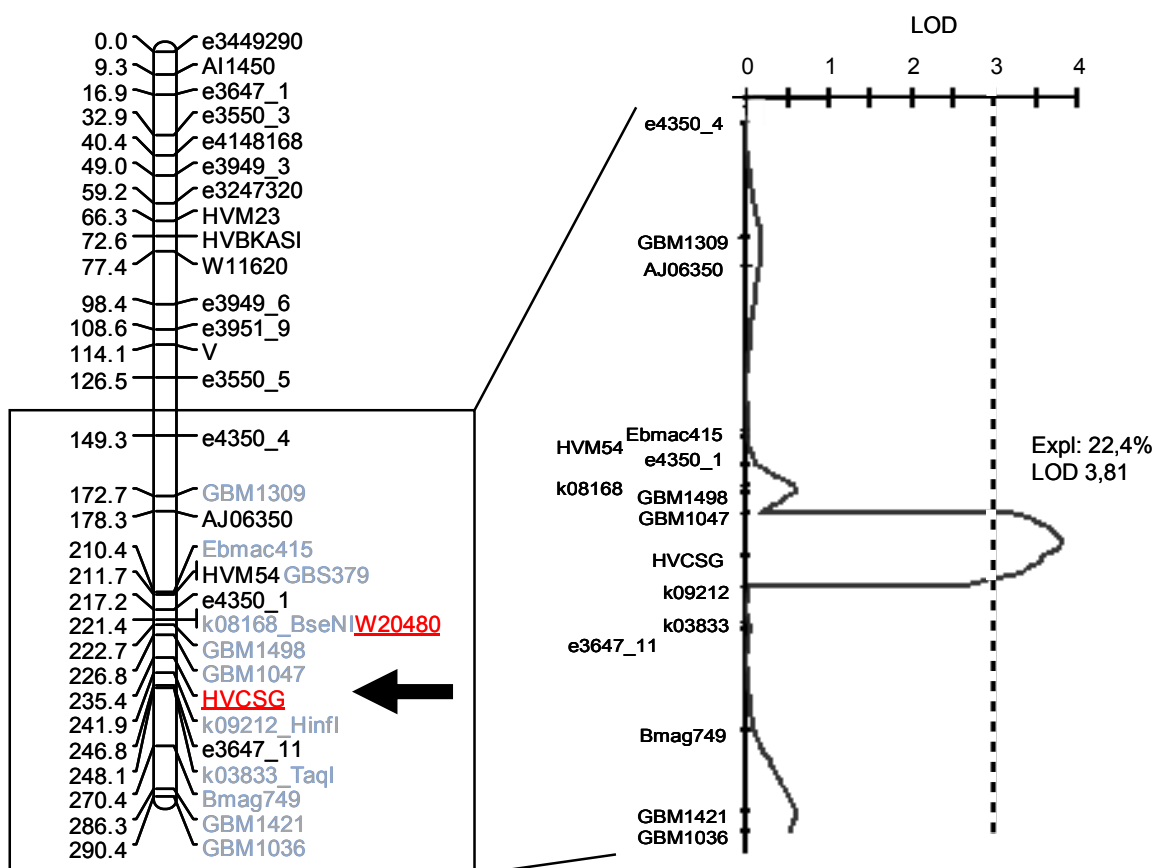


Abbildung 3-5: Genetische Kopplungskarte des Chromosoms 2H nach der Einbringung weiterer Marker (grau) auf dem langen Arm (links), sowie Lage des QTL für den relativen Körnertrag pro Pflanze auf Chromosom 2H (Ausschnitt; rechts)

## **3.2 Analyse der WDV-Toleranz der Gerstensorte 'Post'**

### **3.2.1 Charakterisierung der DH-Population 'Post' x 'Vixen' I**

#### 3.2.1.1 Phänotypisierung im Feldversuch

Als Grundlage für die QTL-Analyse der WDV-Toleranz wurden im Feldversuch phänotypische Daten zur Reaktion der einzelnen DH-Linien auf eine WDV-Inokulation gewonnen und den Werten nicht-inokulierter Pflanzen gegenübergestellt (relative Leistung).

Die Infektionsrate in der WDV-infizierten Variante lag bei einer Inokulation im Tunnelversuch 2006/2007 bei 55 % und 2007/2008 bei < 2 %. Der Versuch im zweiten Jahr konnte aufgrund der mangelnden Infektionsrate nicht ausgewertet werden. Im darauffolgenden Jahr (2008/2009) wurde mit einer modifizierten Inokulation im Gewächshaus eine Infektionsrate von 72 % erzielt.

#### *3.2.1.1.1 Leistung der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards*

Die WDV-tolerante Sorte 'Post', die anfällige Sorte 'Vixen' und auch die anfällige Standardsorte 'Rubina' zeigten in der WDV-infizierten Variante deutliche Unterschiede in den erfassten Wuchs- und Ertragsmerkmalen (Tabelle 3-11). Der relative Kornertrag betrug bei 'Post' 51,5 %, beim anfälligen Elter 'Vixen' 0,3 % und bei der anfälligen Standardsorte 'Rubina' 4,4 %. Die relative Ährenzahl pro Pflanze lag bei 'Post' und 'Rubina' mit ca. 30 % ähnlich hoch, wohingegen aber das relative TKG und die relative Kornzahl pro Ähre bei 'Rubina' infolge der Anfälligkeit gegenüber WDV deutlich geringer ausfielen. 'Vixen' wies in allen Merkmalen die niedrigste relative Leistung auf. Alle drei Sorten zeigten ausgeprägte Symptome, die aber bei 'Post' mit einer Boniturnote von 4,7 deutlich schwächer ausfielen als bei 'Vixen' (8,7) und 'Rubina' (7,5), welche eine starke Verzweigung zeigten.

Tabelle 3-11: Relative Leistungen der Kreuzungseltern 'Post' (tolerant) und 'Vixen' (anfällig) sowie des anfälligen Standards 'Rubina' nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Mittel über die Feldversuche 2006/2007 und 2008/2009

Merkmal	'Post'	'Vixen'	'Rubina'
Kornertrag/Pflanze [%]	51,5	0,3	4,4
Ähren/Pflanze [%]	31,4	10,9	29,4
TKG [%]	71,1	16,3	48,6
Kornzahl/Ähre [%]	61,2	17,1	34,5
Wuchshöhe [%]	64,7	3,8	25,3
Boniturnote (infizierte Variante)	4,7	8,7	7,5

### 3.2.1.1.2 Leistung der DH-Linien

Die meisten DH-Linien reagierten in beiden Jahren hochanfällig auf die Infektion mit dem *Wheat dwarf virus*, so dass der mittlere relative Kornertrag pro Pflanze bei 7,9 % der gesunden Kontrollvariante lag (Tabelle 3-12). Der überwiegende Teil der DH-Linien zeigte Erträge von kleiner gleich 15 % (Abbildung 3-6). Im Mittel erreichten die Pflanzen der infizierten Variante etwa 14 % der Ährenanzahl, 53 % des TKG, 40 % der Kornzahl/Ähre und 26 % der Wuchshöhe verglichen mit den Pflanzen der nicht infizierten Kontrollen. Bei der Symptombonitur war 3,7 die beste Note. Da ein Großteil der Pflanzen bereits während der Wachstumsperiode abgestorben war und so häufig die Boniturnote 9 vergeben wurde, lag die mittlere Benotung bei 7,3. Die absoluten Werte aus der Kontrolle können der Tabelle A 26 im Anhang entnommen werden.

Tabelle 3-12: Relative Leistung nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen und Note der Symptombonitur bei den DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' I in den WDV-Feldversuchen 2006/2007 und 2008/2009

Merkmal	2006/2007	2008/2009	Mittelwert
Kornertrag/Pflanze [%]	13,0	3,5	7,9
Ähren/Pflanze [%]	20,6	6,8	14,2
TKG [%]	62,4	45,2	53,5
Kornzahl/Ähre [%]	58,0	21,9	39,6
Wuchshöhe [%]	29,4	22,1	25,6
Boniturnote (infizierte Variante)	7,1	7,5	7,3

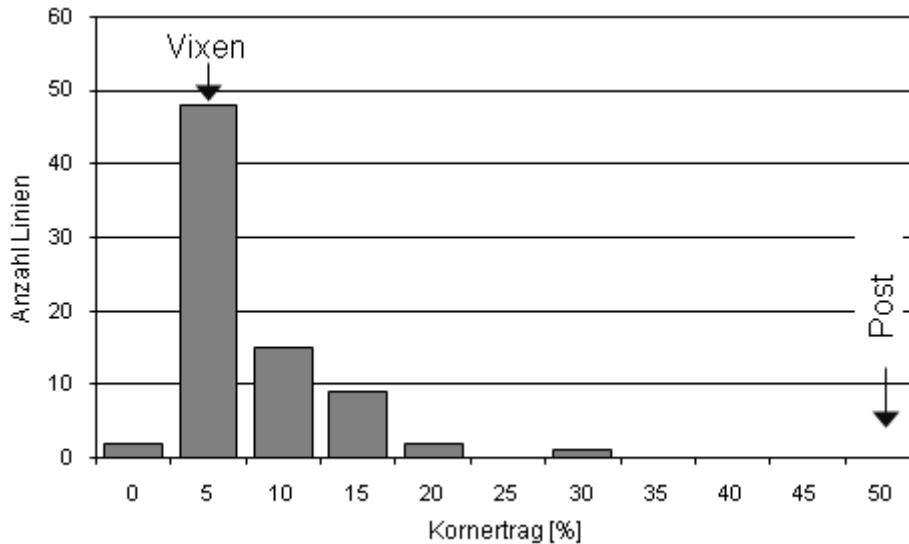


Abbildung 3-6: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' I für den mittleren relativen Kornertrag nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen über beide Versuchsjahre

Eine Normalverteilung der Werte konnte im Kolmogorov Smirnov Anpassungstest in der relativen Wuchshöhe (Abbildung 3-7), der absoluten Wuchshöhe und dem absoluten Kornertrag der Kontrolle im ersten Jahr sowie in der absoluten Ährenzahl und absoluten Halmlänge der Kontrolle im zweiten Jahr (2008/2009) bestätigt werden. Korrelationen ergaben sich u. a. zwischen den relativen Werten von Ährenzahl und Wuchshöhe ( $r = 0,81$ ), Ährenzahl und TKG (0,72), sowie Wuchshöhe und TKG (0,63) (Tabelle A 27).

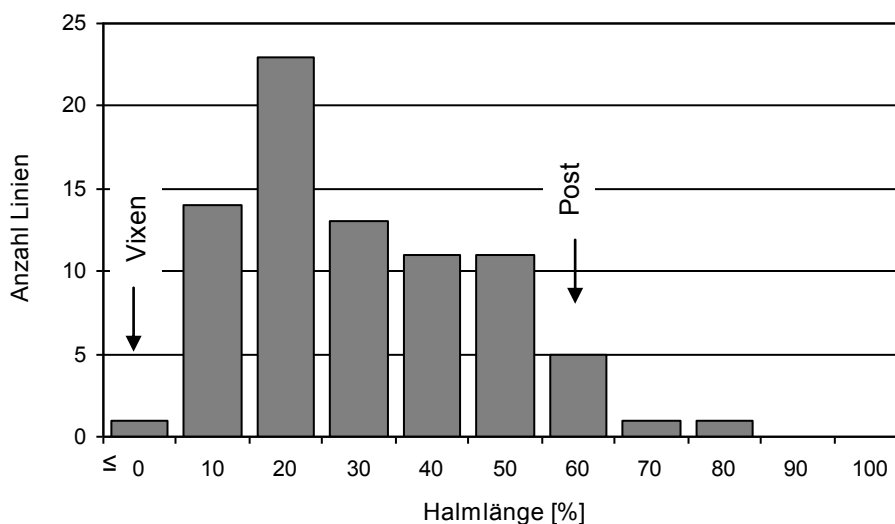


Abbildung 3-7: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' I für die mittlere relative Halmlänge nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen über beide Versuchsjahre

### 3.2.1.2 QTL-Analysen

In der QTL-Analyse wurde die Kopplung von Markern aus der genetischen Karte von SCHEURER et al. (2001) zu den Merkmalen Symptomausprägung, relativer Kornertrag pro Pflanze, relative Ährenzahl pro Pflanze, relatives TKG, relative Kornzahl pro Ähre und relative Halmlänge berechnet, um Genomregionen zu identifizieren, die an der WDV-Toleranz beteiligt sind.

Bei der Verwendung der Mittelwerte aus beiden Versuchsjahren (2006/2007, 2008/2009) ergaben sich auf den Chromosomen 4H, 2H und 1H ausgeprägte QTL für die Symptombonitur und die relative Halmlänge (Tabelle 3-13, Abbildung 3-8). Auf den Chromosomen 2HS und 4HS wurden QTL für die Symptomausprägung (Bonitur) identifiziert, die 11,7 und 25,6 % der phänotypischen Varianz in diesem Merkmal erklären. Für die relative Halmlänge wurden auf den Chromosomen 1HS, 2HS und 4HS QTL detektiert, wobei die Positionen der letzten beiden mit den QTL für die Symptomausprägung übereinstimmen. Der QTL auf 4H erklärt mit 32,5 % den größten Anteil der Varianz der DH-Linien in der relativen Halmlänge, wohingegen die QTL von 1H und 2H deutlich weniger dazu beitragen (6,8 bzw. 11,8 %). Weitere, jedoch nicht signifikante QTL für das relative TKG deuten sich an übereinstimmenden Positionen auf den Chromosomen 4H und 2H an. In den Merkmalen relativer Kornertrag, relative Ährenzahl und relative Kornzahl pro Ähre wurden keine QTL identifiziert. Alle positiven Allele, ausgenommen des QTL von 1H, stammen von der WDV-toleranten Sorte 'Post'.

Tabelle 3-13: Eigenschaften der neu identifizierter QTL (2009) mit LOD größer 3 in der Population 'Post' x 'Vixen' I; der Marker mit dem jeweilig höherem LOD-Wert ist fettgedruckt

Merkmal/ Chromosom	Position [cM]	Marker-Intervall	Erklärt % der phänotypischen Varianz	LOD- Wert
Symptombonitur				
2H	10,3	<b>AI1450</b> - e3647_1	11,7	3,87
4H	62,3	e3648_5 - <b>HVM 3</b>	25,6	7,80
Halmlänge [%]				
1H	44,8	Bmag382 - <b>V17900</b>	6,8	3,22
2H	10,3	<b>AI1450</b> - e3647_1	11,8	4,89
4H	62,3	e3648_5 - <b>HVM 3</b>	32,5	11,41

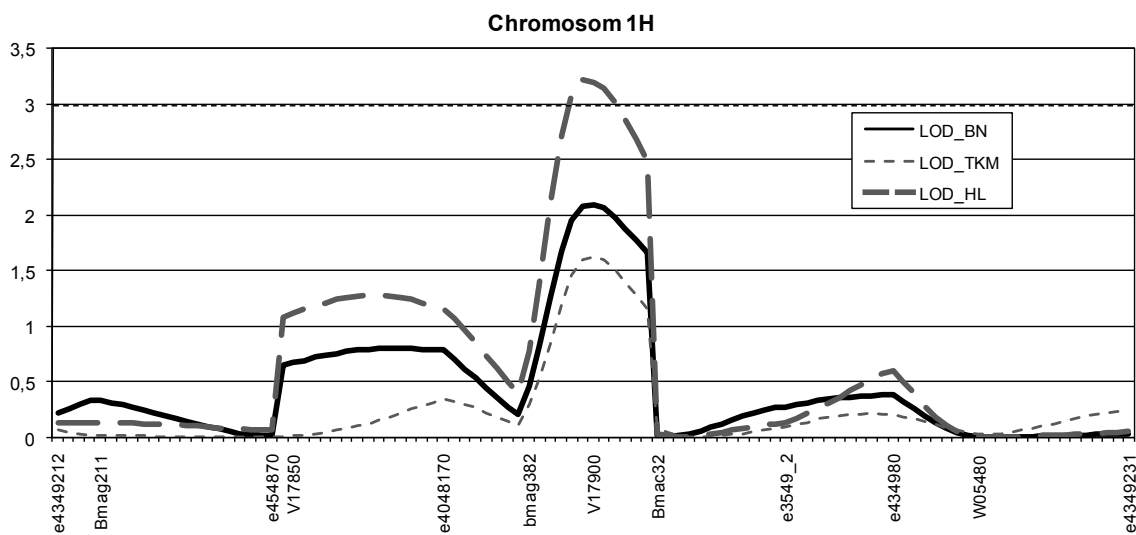
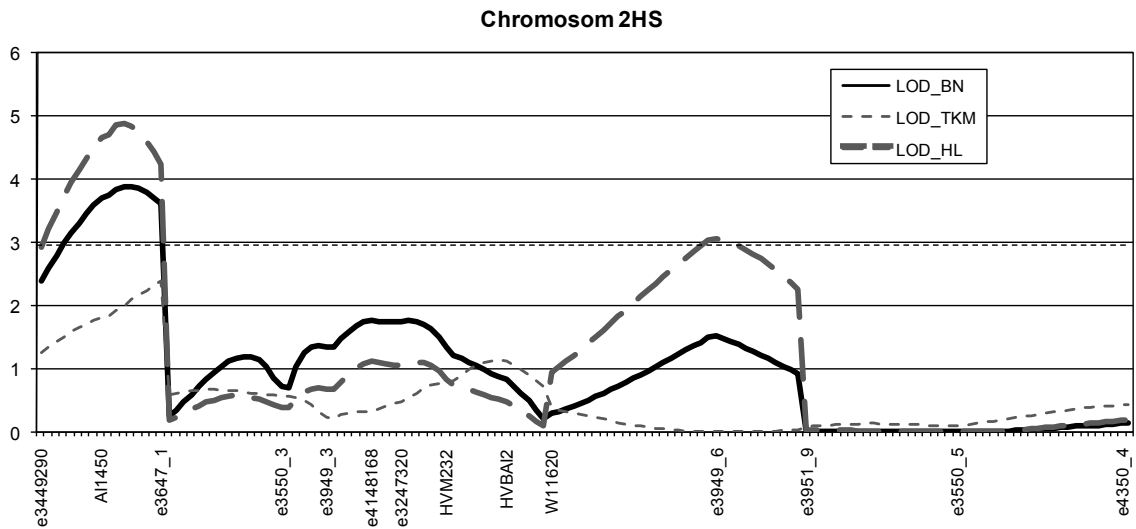
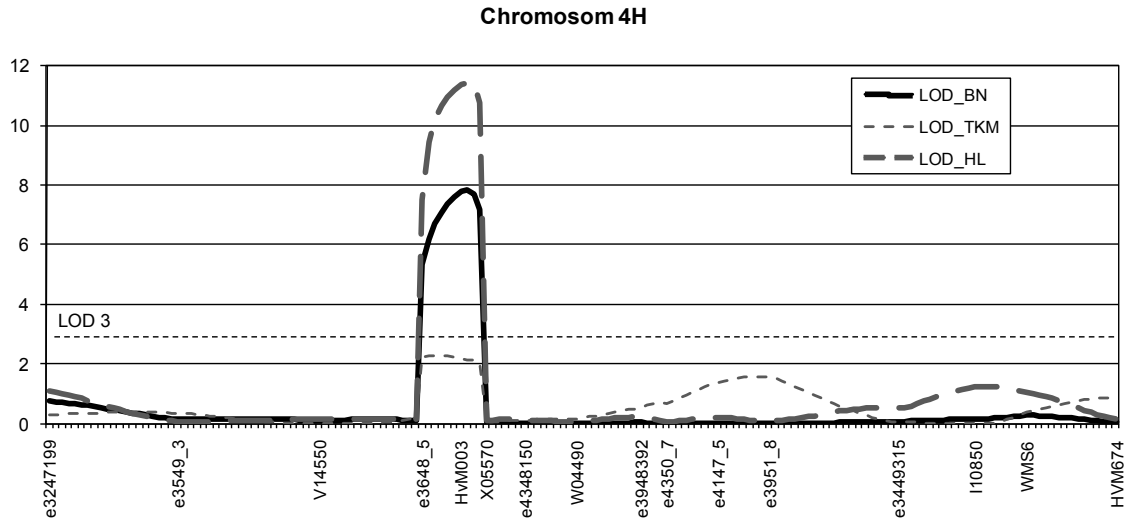


Abbildung 3-8: Positionen der QTL für Symptombonitur (BN), relatives TKG und relative Halmlänge auf den Chromosomen 4H, 2H und 1H in der Population 'Post' x 'Vixen' I

## 3.2.2 Charakterisierung der DH-Population `Post` x `Vixen` II

### 3.2.2.1 Phänotypisierung im Feldversuch

Im Feldversuch wurden die DH-Linien der Kreuzung `Post` x `Vixen` II nach Inokulation mit WDV auf ihre Leistungsfähigkeit relativ zu entsprechenden gesunden Kontrollen untersucht, um die phänotypischen Daten für die QTL-Analysen zu gewinnen.

#### 3.2.2.1.1 *Leistung der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards*

Auf die WDV-Infektion reagierten sowohl `Vixen` als auch `Rubina` hoch anfällig, gekennzeichnet durch Ertragsverluste von über 90 % sowie stark verringerte Leistungen in allen anderen Merkmalen und eine starke Symptomausprägung (Tabelle 3-14). Die WDV-tolerante Sorte `Post` erreichte durchschnittlich noch 47 % des Kornertrages der Kontrolle und wies auch in den anderen Parametern deutlich höhere Werte auf als die beiden anfälligen Sorten. Mit einer durchschnittlichen Boniturnote von 4,9 waren die Virussymptome bei `Post` zwar deutlich sichtbar, aber wesentlich geringer als bei `Vixen` (8,5) und `Rubina` (6,8). Die absoluten Werte aus der nicht-inokulierten Kontrolle können der Tabelle A 28 im Anhang entnommen werden.

Tabelle 3-14: Mittlere relative Leistungen der Kreuzungseltern `Post` (tolerant) und `Vixen` (anfällig) und des anfälligen Standards `Rubina` nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2008/2009

Merkmal	`Post`	`Vixen`	`Rubina`
Kornertrag/Pflanze [%]	47,1	0,5	5,1
Ähren/Pflanze [%]	30,2	2,4	13,4
TKG [%]	73,6	25,8	59,4
Kornzahl/Ähre [%]	64,7	24,9	39,7
Wuchshöhe [%]	64,7	5,3	37,5
Boniturnote (infizierte Variante)	4,9	8,5	6,8

### 3.2.2.1.2 Leistung der DH-Linien

Die DH-Linien zeigten eine breite Variation in ihrer relativen Leistung nach der WDV-Infektion, z. B. im relativem Kornertrag (Abbildung 3-9) und der relativen Wuchshöhe (Abbildung 3-10). Die meisten DH-Linien reagierten ähnlich anfällig wie der Elter 'Vixen'. Dies zeigte sich besonders im relativen Kornertrag, der im Mittel bei 9 % lag und einer mittleren relativen Ährenzahl von 24 % (Tabelle 3-15). Als beste Boniturnote wurde 2,5 vergeben, die gleiche DH-Linie erreichte auch den maximalen relativen Kornertrag von 56 %, die maximale relative Ährenzahl mit 90 %, sowie die maximale relative Wuchshöhe mit 74 %.

Tabelle 3-15: Mittlere relative Merkmalsausprägung bei den DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' II nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2008/2009 nach WDV-Inokulation

Merkmale	Mittelwert
Kornertrag/Pflanze [%]	9,1
Ähren/Pflanze [%]	23,7
TKG [%]	60,9
Kornzahl/Ähre [%]	35,7
Wuchshöhe [%]	33,8
Boniturnote (infizierte Variante)	6,6

Eine Normalverteilung der Werte konnte in den Merkmalen Symptombonitur, absolute Ährenzahl der Kontrolle und absolute Halmlänge in der WDV-Variante und der Kontrolle bestätigt werden (Kolmogorov-Smirnov-Test). Für die Merkmale relativer Kornertrag ( $p < 0,100$ ) und relative Halmlänge ( $p = 0,0496$ ) ergab sich hingegen eine deutliche Abweichung. Korrelationen mit einem berechneten Koeffizienten ( $r$ ) von mindestens 0,58 wurden zwischen den Relativwerten aller Merkmale festgestellt. Der stärkste Zusammenhang wurde zwischen dem relativen Kornertrag und der relativen Ährenzahl ermittelt ( $r = 0,95$ ). Eine ausgeprägte Korrelation ergab sich mit jeweils  $r = 0,88$  ebenfalls für die Wuchshöhe (%) mit den beiden Merkmalen Ertrag (%) und Ährenzahl (%).



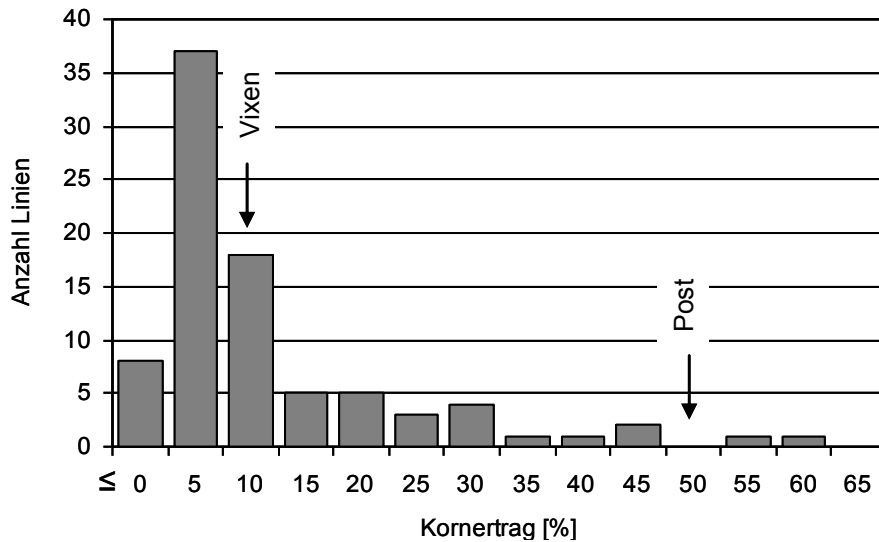


Abbildung 3-9: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' II für den relativen Korntrag nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2009

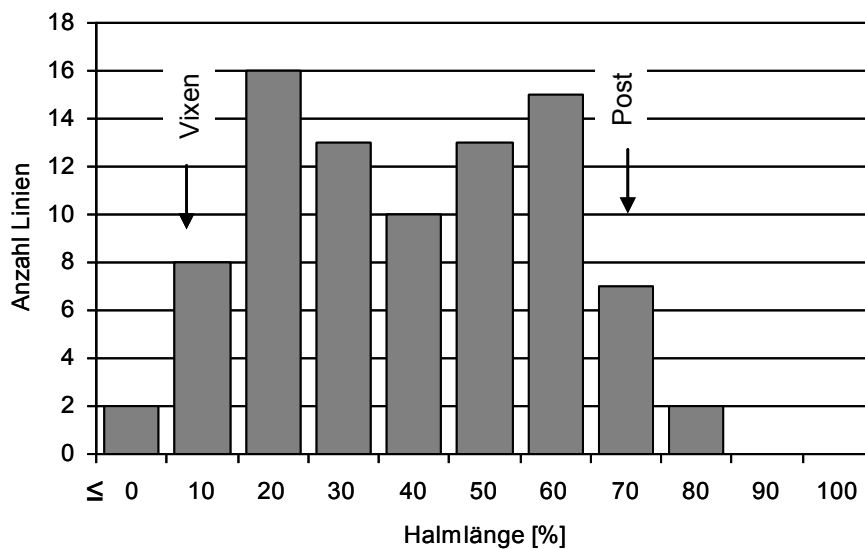


Abbildung 3-10: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population 'Post' x 'Vixen' II für die relative Halmlänge nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2009

### 3.2.2.2 Genetische Karte

Als Grundlage für die QTL-Analyse wurde von der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II eine genetische Kopplungskarte erstellt. Von den 93 zwischen den Eltern polymorphen SSR- und SNP-Markern konnten 77 kartiert werden sowie das Merkmal Ährenzeitigkeit (V). Die Karte umfasst 77 Loci auf einer Länge von 676,6 cM (Abbildung 3-11). Eine gute Abdeckung wird bei Chromosom 2H erreicht, was mit 214 cM auch das längste Chromosom war. Für Chromosom 5H konnten für die Elternlinien keine polymorphen Marker auf dem langen Arm identifiziert werden. Bei allen weiteren Chromosomen (1H, 3H, 4H, 6H, 7H) konnte mit den vorhandenen SSR- und SNP-Markern nur eine stückweise Abdeckung und Kartierung im Rahmen dieser Arbeiten erfolgen. Chromosom 4H wurde aufgrund fehlender Marker im mittleren Bereich in zwei Kopplungsgruppen dargestellt. Eine Abweichung in der Spaltung für die Eltern-Allele (a, b) wurde im  $\chi^2$ -Anpassungstest bei 33 Markern und damit 42 % der Marker festgestellt. Alle Marker von Chromosom 1H zeigten die erwartete 1 : 1-Spaltung, aber keiner der Marker auf Chromosom 5H und 7H. Bei 21 Markern mit gestörter Segregation, die auf die Chromosomen 2H, 3H und 7H beschränkt waren, ergab sich eine Verschiebung im Verhältnis zu Gunsten des Allels von 'Vixen', wohingegen bei 12 Marken von Chromosom 4H, 5H und 6H überwiegend das 'Post'-Allel vertreten war.

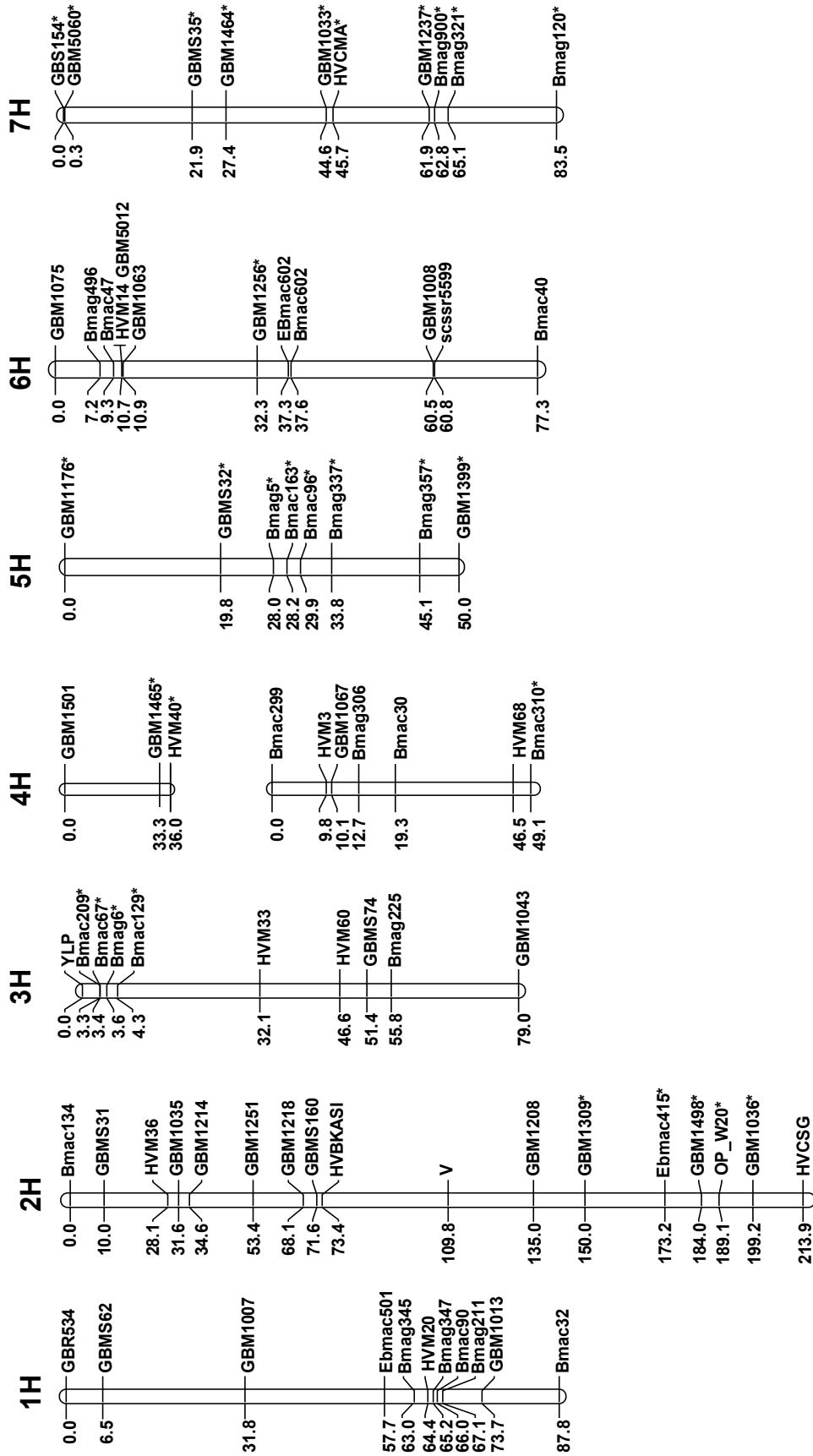


Abbildung 3-11: Genetische Kopplungskarte der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II; Marker mit gestörter Segregation sind mit \* gekennzeichnet

### 3.2.2.3 QTL-Analysen

Um die in `Post` vorhandene Toleranz gegenüber WDV zu lokalisieren, wurde mit den im Feldversuch erhobenen Daten eine QTL-Analyse durchgeführt.

In der QTL-Analyse wurden auf Grundlage der genetischen Karte die Merkmale Symptomausprägung, relativer Kornertag pro Pflanze, relative Ährenzahl pro Pflanze, relatives TKG, relative Kornzahl pro Ähre und relative Halmlänge untersucht. In der QTL-Analyse konnten mit den phänotypischen Daten aus dem Feldversuch 2008/2009 mehrere QTL auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 4H identifiziert werden (Abbildung 3-12). Die positiven Allele stammen mit Ausnahme des QTL auf 1H von der toleranten Sorte `Post`.

Für die Symptomausprägung wurden QTL auf den o. g. vier Chromosomen identifiziert, wobei der QTL auf Chromosom 2H alleine 43,5 % der Varianz in diesem Merkmal erklärte (Tabelle 3-16). Für den relativen Kornertag nach WDV-Infektion wurden QTL auf den Chromosomen 2H und 4H identifiziert, welchen 23,4 bzw. 11,3 % der phänotypischen Varianz zuzuordnen sind. QTL für die relative Ährenzahl wurden auf den Chromosomen 1H, 2H und 4H lokalisiert. Davon trägt der QTL auf 2H mit 32,2 % den größten Anteil zur phänotypischen Varianz bei. Für die Merkmale relatives TKG wurden QTL auf den Chromosomen 2H und 3H identifiziert und für die relative Kornzahl pro Ähre auf den Chromosomen 2H und 4H. QTL für die relative Halmlänge wurden auf drei Chromosomen detektiert, wobei der QTL auf Chromosom 2H mit 49,6 % einen deutlich höheren Anteil an der phänotypischen Varianz erklärt als jene auf den Chromosomen 3H und 4H.

Die größte Bedeutung für den Phänotyp der DH-Linien nach einer WDV-Infektion hat der auf Chromosom 2H lokalisierte QTL, in dem im gleichen Markerintervall um den Mikrosatellitenmarker GBM1218 QTL für alle 6 Merkmale identifiziert wurden. Dem QTL von Chromosom 4H werden außer dem relativen TKG ebenso alle anderen Merkmale zugeordnet, wobei allerdings der Bereich des QTL für den relativen Kornertag leicht verschoben ist.

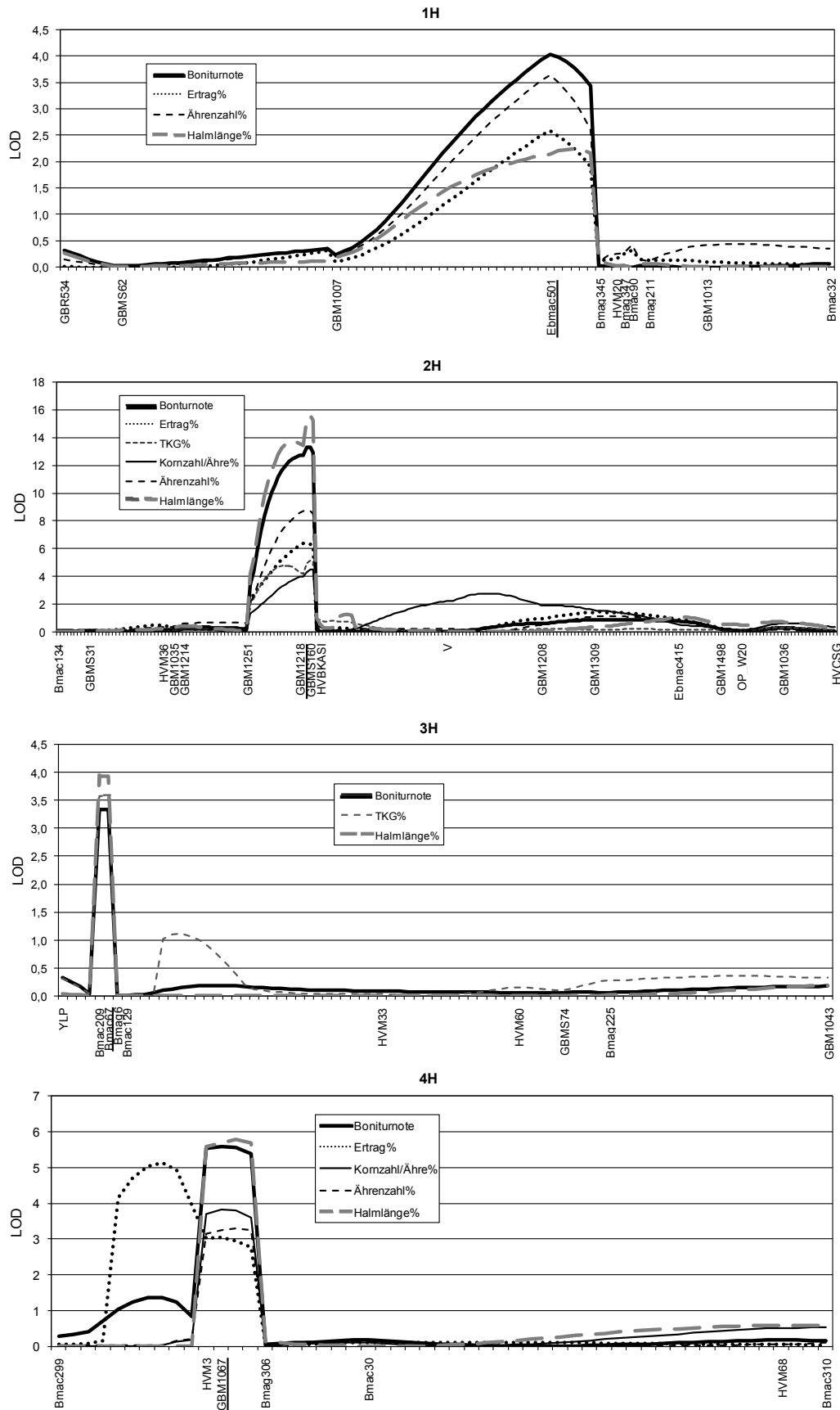


Abbildung 3-12: Positionen der QTL in der Population 'Post' x 'Vixen' II auf der Grundlage der Felddaten 2009 für die verschiedenen Merkmale auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 4H; Marker, die als Cofaktoren verwendet wurden, sind unterstrichen

Tabelle 3-16: Eigenschaften identifizierter QTL mit LOD größer 3 in der Population 'Post' x 'Vixen' II (2009); Marker mit höchstem LOD-Wert sind fettgedruckt

Merkmal/ Chromosom	Position [cM]	Marker-Intervall	Erklärt % der phänotyp. Varianz	LOD- Wert
Symptombonitur				
1H	57,7	<b>Ebmac501</b> – Bmag345	9,9	3,99
2H	70,1	<b>GBM1218</b> – GBMS160	43,5	13,33
3H	3,3	Bmac209 – <b>Bmac67</b>	6,9	3,37
4H	9,8	HVM3 – <b>GBM1067</b>	14,3	5,53
Kornertrag [%]				
2H	68,1	<b>GBM1218</b> – GBMS160	23,4	6,41
4H	8,0	Bmac299 - <b>HVM3</b>	11,3	3,08
Ährenzahl [%]				
1H	57,7	<b>Ebmac501</b> – Bmag345	12,1	3,58
2H	69,1	<b>GBM1218</b> – GBMS160	32,2	8,73
4H	7,0	HVM3 – <b>GBM1067</b>	12,3	3,25
TKG [%]				
2H	70,1	<b>GBM1218</b> – GBMS160	22,3	5,11
3H	3,3	Bmac209 – <b>Bmac67</b>	14,1	3,59
Kornzahl/Ähre [%]				
2H	71,1	<b>GBM1218</b> – GBMS160	15,2	4,01
4H	8,0	HVM3 – <b>GBM1067</b>	14,8	3,72
Halmlänge [%]				
2H	70,1	<b>GBM1218</b> – GBMS160	49,6	15,51
3H	3,4	Bmac209 – <b>Bmac67</b>	8,2	3,97
4H	9,8	HVM3 – <b>GBM1067</b>	14,7	5,57

### 3.2.3 QTL-Analyse der WDV-Toleranz

In den Populationen der Kreuzung 'Post' x 'Vixen' I und II konnte ein gemeinsamer QTL für WDV-Toleranz auf Chromosom 4H im Bereich des SSR HVM3 identifiziert werden. HVM3 ist ein frei verfügbarer PCR-basierter Mikrosatellitenmarker [F:5' ACACCTTCCCAGGACAATCCATTG 3'; R: 5' AGCACGCAGAGCACCGAAAAAGTC 3'], der für die WDV-tolerante Sorte 'Post' ein PCR-Fragment von 157 bp zeigt und für die anfällige Sorte 'Vixen' von 190 bp, wodurch die Analyse direkt und einfach in der horizontalen Gelelektrophorese durchgeführt werden kann (Abbildung 3-13). Weitere QTL liegen in beiden Populationen in unterschiedlichen Bereichen (Chromosom 1H), oder können nicht direkt verglichen werden, da keine gemeinsamen Marker in der Nähe der QTL in den Karten der Populationen vorliegen (Chromosom 2H).

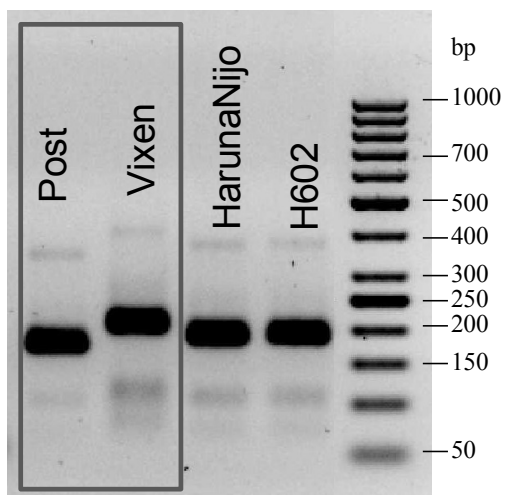


Abbildung 3-13: Polymorphismus des Mikrosatellitenmarkers HVM3 mit einer Fragmentgröße von 157 bp bei der Sorte 'Post' und 190 bp bei 'Vixen'

## 4 Diskussion

### 4.1 *Pyramidisierung von BYDV-Toleranzallelen in der Gerste*

#### 4.1.1 **Eingrenzung des QTL (BYDV) auf Chromosom 2HL**

Der Markerabstand im Bereich des QTL 2H für BYDV-Toleranz konnte durch die Nutzung von SSR- und SNP-Markern um 6,7 cM auf 8,6 cM verringert werden. Eine weitere Eingrenzung dieser QTL Region könnte zum einen durch eine weitergehende Nutzung der Karte von SATO et al. (2009), die bereits zur Auswahl einzelner SNP-Marker verwendet wurde oder weiterer hochdichter Markerkarten (z. B. von STEIN et al. 2007; HEARDEN et al. 2007; CLOSE et al. 2009) erfolgen. Ebenso kann die Syntenie zu Reis, *Brachypodium*, *Sorghum* und Weizen sowie die zunehmend in Gerste zur Verfügung stehende Sequenzinformation (MAYER et al. 2011) genutzt werden. Die Syntenie zwischen Reis und Gerste wurde mehrfach für die hochauflösende Kartierung von Resistenzgenen verwendet (*Rpg1* - KILIAN et al. 1995; *rpg4* - HAN et al. 1998; *RpH16* - PEROVIC et al. 2004). Das Chromosom 2H der Gerste weist starke Syntenien zu den Reischromosomen 4 und 7 auf (THIEL et al. 2009). Mit Hilfe des BLAST (*Basic Local Alignment Search Tool*) können homologe Sequenzen zwischen den PCR-Produkten der identifizierten flankierenden Marker der Gerste im Reisgenom identifiziert und weitere Marker abgeleitet werden, die in der 'Post' x 'Vixen'-Population zur Markerabsättigung herangezogen werden können.

Aufgrund der im Vergleich zu *Ryd2* und *Ryd3* nur geringen Toleranzwirkung, zumindest in der hier untersuchten Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136', ist der Aufwand zu diesem Zeitpunkt jedoch nicht gerechtfertigt und es bietet sich an, die Fertigstellung der Gerstengenomsequenz abzuwarten.

#### 4.1.2 **Gestörte Segregation der DH-Linien**

Die Genotypisierung der DH-Linien zeigte eine gleichmäßige Aufspaltung bei der Kreuzung 'RIL K4-56' x 'Coracle', aber eine deutliche Verschiebung in den DH-Linien zu Gunsten der Toleranzallele an den Loci *Ryd3* und QTL-2H bei der Kreuzung 'RIL K4-56' x 'DH21-136'. Am Locus *Ryd3* wurde eine Spaltung im Verhältnis 2 : 1 festgestellt. Die abweichende Aufspaltung der Allele des QTL auf Chromosom 2H ist im Vergleich dazu geringer ausgeprägt (3 : 2).



Eine gestörte Segregation wurde bereits in vielen Gerstenpopulationen aus *in-vitro*-Kultur beobachtet (GRANER et al. 1991; HEUN et al. 1991; SCHEURER et al. 2001) und wird in der Regel durch Unterschiede in der *in-vitro*-Kulturtauglichkeit der Kreuzungseltern erklärt. Die Regenerationsfähigkeit in der Gewebekultur aus Mikrosporen oder Antheren wird vom Genotyp beeinflusst. Bei Mais wurden umfangreiche Untersuchungen zu diesem Thema angestellt und verschiedene QTL beschrieben, die einen Einfluss auf die Regenerierbarkeit haben (BECKERT 1998; DUFOUR et al. 2001; HENRY et al. 1994). In einer DH-Population von Triticale konnten GOZÁLEZ et al. (2005) mehrere QTL identifizieren, die sich unterschiedlich auf die Embryogenese *in vitro* auswirkten. CASTILLO et al. (2001) konnten durch künstlich erzeugte sechszeilige Linien der eigentlich zweizeiligen Wintergerstensorte 'Igrí' einen vermuteten pleiotropen Effekt der Zeiligkeit auf die *In-vitro*-Kulturtauglichkeit widerlegen und schließen aufgrund der engen Kopplung auf ein mit dem Zeiligkeitslocus eng gekoppeltes Gen.

Die Abweichungen der Aufspaltung der DH-Linien auf die Allelkombinationen konnte somit bereits in mehreren Arbeiten nachgewiesen werden (s. o.). Sie hatte jedoch keinen Einfluss auf die Ergebnisse dieser Arbeit, da von allen Allelkombinationen ausreichend DH-Linien für die Feldtests zur Verfügung standen.

#### **4.1.3 Resistenzwirkung von *Ryd2*, *Ryd3* und des QTL auf Chromosom 2H**

Mit den untersuchten DH-Populationen konnten die beiden bedeutendsten Gene *Ryd2* und *Ryd3* für die Widerstandsfähigkeit gegenüber BYDV erstmals direkt verglichen werden. Linien mit dem Toleranzallel *Ryd3* zeigten an allen Standorten und Jahren in den Merkmalen relativer Kornertrag/Pflanze, relative Ährenzahl/Pflanze und Symptomausprägung ein höheres Toleranzniveau als jene mit *Ryd2*, dennoch war der Unterschied nicht so groß wie sich aus anderen Arbeiten vermuten lässt. Nach NIKS et al. (2004) erklärte *Ryd3* in der ursprünglichen Kartierungspopulation 75 % der phänotypischen Varianz, was deutlich höher ist als die 19 %, die in der Population von SCHEURER et al. (2001) *Ryd2* zugeordnet werden konnten. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass schon SCHALLER et al. (1964) eine starke Abhängigkeit des Toleranzeffektes des *Ryd2*-Alleles von Umweltbedingungen und dem genetischen Hintergrund feststellten, weshalb hier keine generelle Aussage

getroffen werden kann, da keine verschiedenen genetischen Hintergründe untersucht wurden.

Der QTL auf Chromosom 2H, der in die Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' zusätzlich eingebracht wurde, führte in den Kombinationen mit *Ryd2* und/oder *Ryd3* zu keiner eindeutigen zusätzlichen Erhöhung der Toleranz. Kommt das Toleranzallel des QTL 2H aber allein vor, kann eine signifikante Steigerung des Toleranzniveaus bei allen erfassten Merkmalen gegenüber Linien ohne Toleranzallel festgestellt werden. Allerdings liegt die Wirkung weit unter der von *Ryd2* und *Ryd3*, womit die Beobachtungen deutlich von den Ergebnissen von SCHEURER (2001) abweichen, in denen *Ryd2* und der QTL auf Chromosom 2H in der DH-Population 'Post' x 'Vixen' einen nahezu gleich hohen Anteil (19 %) an der Varianz im relativen Kornertrag nach Infektion mit BYDV erklärten. Diese unterschiedlichen Ergebnisse können ebenfalls im genetischen Hintergrund begründet sein. Der QTL auf Chromosom 2H hat damit zumindest im Hinblick auf den in der vorliegenden Arbeit untersuchten genetischen Hintergrund kaum Bedeutung für die Züchtung gegenüber BYDV-PAV im Vergleich zu *Ryd2* und *Ryd3*.

Im relativen Kornertrag und der relativen Anzahl ährentragender Halme erreichten die Linien mit *Ryd2* und *Ryd3* in der infizierten Variante sogar höhere Werte als ohne BYDV-Inokulation (Kornertrag: plus 16 bzw. 5 %). Als Erklärung dafür liegt eine durch BYDV ausgelöste erhöhte Bestockung nahe, die bereits von SCHEURER (2001) in Gewächshausversuchen beobachtet wurde. Zudem wurde im Mittel bei den DH-Linien aller Allelkombinationen durch BYDV eine Verzögerung im Ährenschieben verursacht, die je nach Kombination ein bis sechs Tage betrug. Durch die folglich vorhandenen Entwicklungsunterschiede können gleiche Witterungsbedingungen unterschiedlichen Einfluss auf die Bildung des Kornertrages gehabt haben, die zu Ertragsunterschieden zwischen inokulierter Variante und Kontrollvariante geführt haben können.

#### **4.1.4 Pyramidisierung zur Verbesserung des Resistenzniveaus**

Durch die markergestützte Pyramidisierung der Toleranzallele *Ryd2*, *Ryd3* und des QTL auf Chromosom 2H konnte ein verbesserte Widerstandsfähigkeit gegenüber *Barley yellow dwarf virus* in Winter- und Sommergersten-DH-Linien erreicht werden. Linien mit den beiden Toleranzallelen *Ryd2* und *Ryd3* zeigten nach der BYDV-PAV-Inokulation in den DH-Populationen 'RIL K4-56' x 'Coracle' und 'RIL K4-56' x 'DH21-136' in allen Merkmalen (Wuchshöhe, Anzahl ährentragender Halme, TKG,

Kornertrag) eine höhere relative Leistung als jene mit nur einem dieser Toleranzallele. Zudem führte diese Kombination auch zu einer verringerten Symptomausprägung und einer signifikanten Reduktion des Virustiters und damit zu „quantitativer Resistenz“.

Durch Pyramidisierung konnte ebenso in anderen Wirt-Pathogen-Systemen eine Erhöhung des Resistenzniveaus durch verringerte Symptomausprägung bei der Wirtspflanze und/oder verringerte Vermehrungsrate bzw. reduziertes Wachstum des Pathogens festgestellt werden.

JAHIER et al. (2009) konnten zwei Gene für partielle Resistenz gegenüber BYDV-PAV aus *Thinopyrum intermedium* mit Hilfe der GISH-Methode (genomic *in situ* hybridization) in einer Weizenlinie nachweisen und so die Wirkung der Einzelgene und der Kombination auf das Auftreten fünf verschiedener PAV-Isolate mit Hilfe des DAS-ELISA beschreiben. Wie auch in der vorliegenden Arbeit wurde dabei festgestellt, dass die Virus-Akkumulation in der Linie (ZT) mit beiden Resistenzgenen (*Bdv2*, Introgression auf Chromosom 2) deutlich niedriger war als in den Linien mit nur einem Gen oder in der anfälligen Sorte `Sunstar`. Zusätzlich fiel in dieser Studie auf, wie auch in der vorliegenden Arbeit, dass die Infektionsrate durch die Kombination der beiden Gene deutlich zurückgeht. 21 Tage nach der Inokulation wurde das Virus bei 42 % der Pflanzen der Linie ZT (beide Gene) im ELISA nachgewiesen, im Vergleich zu dem fast doppelt so hohen Anteil bei den Linien mit ausschließlich *Bdv2* oder nur der Introgression auf Chromosom 2. JAHIER et al. (2009) verdeutlichten zudem anhand der AUPPC-Werte (*Area Under Pathogen Incidence Progression Curve*), bei der auch die zeitliche Entwicklung der ELISA-Extinktionen nach der Inokulation mit eingeht, dass die beiden Resistenzgene unterschiedlichen Schutz vor den fünf untersuchten BYDV-PAV-Isolaten geben. Der additive Effekt der Kombination zeigte sich dadurch, dass diese Unterschiede ausgeglichen wurden und zudem das Resistenzniveau gegenüber allen Isolaten deutlich angehoben wurde.

Solch ein Effekt könnte auch durch die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* auf weitere BYDV-Isolate möglich sein, allerdings war diese Frage nicht Bestandteil der vorliegenden Arbeit.

Auch bei Pilzkrankheiten an Getreide konnten ähnliche Beobachtungen gemacht werden. KLOPPERS und PRETORIUS (1997) stellten bei der Kombination mehrerer *Lr*-Resistenzgene gegenüber Braunrost eine gesteigerte Resistenz bei Weizen fest. Die

Kombination *Lr13* und *Lr37* bewirkte ein erhöhtes Resistenzniveau gegenüber zwei Rost-Isolaten, genauso wie die Kombination aus *Lr34* und *Lr13*, welche allerdings erst im Feld eine hohe Effizienz entfaltete. Bei allen drei Kombinationen von *Lr13*, *Lr34* und *Lr37* wurden signifikante Einschränkungen des Pilzwachstums in der frühen Nach-Infektions-Phase und reduzierte Koloniegrößen im Vergleich zu den Einzelgenen beobachtet.

HUANG et al. (1997) entwickelten für die rezessiven „Rice Blight“ (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) Resistenzgene *xa-5* und *xa-13* PCR-basierte Marker und kombinierten diese beiden Resistenzallele mit *Xa-4* und *Xa-21* in Reis-Linien, wodurch sie eine breitere und verbesserte Resistenz gegenüber sechs getesteten Isolaten der bakteriellen Reisbräune erreichten. KOIDE et al. (2010) bestätigten durch die Kombination der beiden Resistenzgene *Pish* und *Pib* deren additiven Effekt gegenüber dem Blattbrand (*Magnaporthe oryzae*) an Reis. Eine kombinierte Resistenz gegenüber diesen beiden bedeutenden Reis-Pathogenen erreichten NARAYANAN et al. (2003) durch die Pyramidisierung der Resistenzgene *Pi-1*, *Piz-5* und *Xa-21*.

Diese Beispiele zeigen, dass die Kombination effektiver Resistenzgene in einem Genotyp ein geeignetes Mittel ist, um Resistenzen zu verbessern, wie auch in dieser Arbeit mit BYDV gezeigt werden konnte.

#### **4.1.5 ELISA als Maß für die Widerstandsfähigkeit gegenüber BYDV**

In beiden DH-Populationen wurde festgestellt, dass die Allelkombination *Ryd2/Ryd3* neben einem verbesserten Toleranzniveau, das sich in einem höherem relativen Kornertrag und einer höheren Leistung in weiteren Merkmalen zeigte, auch zu einer signifikanten Reduktion des Virustiters (gemessen als Virusextinktion) führt und damit zu „quantitativer Resistenz“. Ähnliche Beobachtungen machten JAHIER et al. (2009) bei der Kombination von *Bdv2* und einer BYDV-Resistenz aus *Thinopyrum intermedium* (Chromosom 2Ai-2) in Weizen. In ihren Arbeiten ermittelten sie ebenfalls einen sehr niedrigen Virustiter und eine signifikant geringere Anzahl an infizierten Pflanzen bei Linien mit beiden Genen im Vergleich zu den einzelnen Loci. Während in verschiedenen Wirt-Pathogen-Systemen wie *Cucumber mosaic virus* – Gurke (WEBER et al. 1990) oder *Potato leaf-roll virus* – Kartoffel (BARKER & HARRISON 1986) der Virusgehalt mit dem Resistenzniveau korreliert, sind die Beobachtungen für BYDV nicht einheitlich. Hinsichtlich der Effektivität von *Ryd2* gibt es unterschiedliche Ergebnisse. SIP et al. (2006) stellten eine positive Korrelation

zwischen der ELISA-Extinktion bei Sämlingen der Gerstenkreuzung 'Igri' (*ryd2*) x 'Atlas 68' (*Ryd2*) und der Symptomstärke in Feldversuchen fest. Dies deutet auf eine verminderte Virusreproduktion in der Pflanze zumindest im Sämlingsstadium hin, und somit darauf, dass es sich bei *Ryd2* eher um ein Gen für Resistenz als für Toleranz handelt. Auch LARKIN et al. (1991), SKARIA et al. (1985) und RAINERI et al. (1993) ermittelten eine positive Korrelation zwischen der Symptomstärke und der ELISA-Extinktion, welche in jüngeren Pflanzen stärker ausgeprägt war. SCHEURER et al. (2000) und BANKS et al. (1992) hingegen fanden keinen Zusammenhang zwischen dem Virusgehalt und dem Toleranzniveau, weshalb diese Arbeiten auf eine durch *Ryd2* vermittelte Toleranz hindeuten. CATHERALL et al. (1970) und CHALHOUB et al. (1995) folgerten aus ihren Arbeiten ein Vorhandensein von mehreren Allelen am *Ryd2*-Locus, welche sich in der Effizienz gegenüber BYDV unterscheiden. In den Arbeiten von NIKS et al. (2004) wurde bei Pflanzen mit *Ryd3* eine geringere Infektionsrate festgestellt. Dies konnte jedoch in den vorliegenden Arbeiten nicht bestätigt werden, sondern sowohl *Ryd2* als auch *Ryd3* bewirkten eine Toleranz aber keine Resistenz gegenüber BYDV (Abbildung 3-2).

Der ELISA kann somit ein wichtiges Werkzeug in der Züchtung sein, dessen Einsatzmöglichkeit abhängig vom genetischen Hintergrund der Pflanze die quantitative Bestimmung der Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Pathogen oder ausschließlich die Feststellung von vollständiger Resistenz ist. In der vorliegenden Arbeit lässt sich die quantitative Virusresistenz aufgrund einer großen Datenbasis für die analysierte Virus-Extinktion sehr gut mittels ELISA feststellen. ELISA kann aber auch in diesem Fall nicht als alleiniges Merkmal zur Selektion von resistenten Genotypen genutzt werden, da die ELISA-Extinktion zwar eine hohe Heritabilität ( $h^2 = 0,7 - 0,8$ ), aber durch den großen Anteil an toleranten Pflanzen, keinen engen Zusammenhang ( $R^2 < 0,4$ ; Tabelle 3-5 bzw. 3-9) mit dem relativen Kornertrag zeigte. Eine Alternative zum ELISA, die eine genauere und sensitivere Bestimmung des Virusgehaltes ermöglicht, ist die quantitative Real Time (qRT) PCR (BALAJI et al. 2003). In der qRT-PCR wird durch den Nachweis spezifischer DNA-Sequenzen die Anzahl an Viren/Viruskopien in der Pflanzenprobe bestimmt, wohingegen die Antikörper des ELISA auf Stücke der Virushülle reagieren. In der Effizienz ist die qRT-PCR durch den höheren Aufwand bei der Probenaufbereitung und dem niedrigen Probendurchsatz jedoch nicht mit dem ELISA vergleichbar.

#### 4.1.6 Epidemiologische Konsequenzen eines verringerten Virustiters

Der reduzierte Virusgehalt in Pflanzen mit der Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* scheint, wie in Gewächshausversuchen festgestellt, keine epidemiologischen Vorteile mit sich zu bringen (Abbildung 3-4). Bei der Übertragung des Virus von quantitativ resistenten Linien, bei denen eine niedrige Extinktion im ELISA gemessen wurde (z. B.  $E_{405} = 0,3$ ), auf Linien ohne Toleranzallele wurde ein hoher Extinktionswert ( $E_{405} > 1,0$ ) festgestellt. Der Virusgehalt, ermittelt als Virusextinktion im ELISA, zeigte sich in neu infizierten Pflanzen unabhängig vom Virusgehalt der Infektionsquelle. Somit wird durch den Vektor Blattlaus entweder ähnlich viel Virus aufgenommen bzw. abgegeben oder durch eine effektive Virusreproduktion in der neu infizierten Pflanze werden Unterschiede in der Übertragung ausgeglichen. Um den Sachverhalt vollständig zu klären, müssten die Vektoren nach der Virusaufnahme genauer untersucht werden, z. B. mit Real-Time RT-PCR (FABRE et al. 2003), um die vorhandenen Virusmengen in der Blattlaus genauer zu bestimmen.

Pflanzen mit *Ryd2/Ryd3* können damit weiterhin als Infektionsquelle dienen. Trotzdem können Linien (Genotypen) mit dieser Allelkombination die Wahrscheinlichkeit der Aufnahme und Verbreitung des Virus durch Blattläuse reduzieren, da in einer erhöhten Anzahl an Pflanzen BYDV-PAV im ELISA nicht nachweisbar war ( $E_{405} < 0,1$ ; Tabelle 3-4 und 3-8).

Im Gegensatz dazu stellten BARKER und HARRISON (1986) fest, dass die Blattlausart *Myzus persicae*, der Vektor des *Potato leafroll virus*, weniger Virus von resistenten Pflanzen mit geringerer Viruskonzentration aufnimmt und abgibt. Sie beobachteten bei der Virusaufnahme von resistenten Pflanzen eine stark verringerte Infektionsrate von nur 3 % im Vergleich zu 58 % infizierten Pflanzen bei Virusaufnahme von anfälligen Pflanzen mit hohen Virusgehalten.

In wie weit quantitativ resistente Pflanzen mit verringerten Gehalten an Viruspartikeln Einfluss auf die Weiterverbreitung (Epidemiologie) eines Virus nehmen, scheint damit auch abhängig vom Virusvektor zu sein.

#### 4.1.7 Nutzen und Einsatzmöglichkeiten des getesteten Pflanzenmaterials in der Gerstenzüchtung

In der Gerstenzüchtung kann die markergestützte Kombination der Toleranzallele der Gene *Ryd2* und *Ryd3* aufgrund der Lokalisierung auf unterschiedlichen Chromosomen (3H, 6H) und der Verfügbarkeit von eng gekoppelten PCR-basierten Markern wie YlpPCRM und HVM74 (neben weiteren Markern wie HVM22 und HVM14, siehe NIKS et al. 2004) mit relativ geringem Aufwand durchgeführt werden. Bisher wurde speziell *Ryd2* in der Züchtung BYDV-toleranter Gerstensorten verwendet. Entwickelt wurden Sorten wie 'Coracle' (CATHERALL und WILKINS 1977) und 'Vixen' (PARRY und HABGOOD 1986), welche aber aktuell für den Anbau nicht mehr relevant sind. In Markeranalysen stellten SAYED et al. (2006) fest, dass z. B. in der Sorte 'Granado' bereits *Ryd3* vorhanden ist und in der Sommergerstensorte 'Laurel' die Toleranzallele von *Ryd2* und *Ryd3* kombiniert sind. Detaillierte Resistenztests sind dazu allerdings nicht vorhanden. In der vorliegenden Arbeit wurde erstmals das Toleranzallel am Locus *Ryd3* von Sommergerste in Wintergerste transferiert, die in der Praxis durch die Herbstsaat deutlich stärker von einer BYDV-Infektion betroffen ist. Somit stehen nun sowohl Sommergerstenlinien als auch Wintergerstenlinien mit beiden Toleranzgenen zur Züchtung von quantitativ resistenten Gersten gegenüber BYDV zur Verfügung. Der Mechanismus der die Toleranz oder Resistenz bedingt wird bei *Ryd2* auf eine Hemmung der Virusvermehrung im Phloem zurückgeführt (SKARIA et al. 1985; RANIERI et al. 1993), ist aber bei *Ryd3* bisher unbekannt. Ein unterschiedlicher unabhängiger physiologischer Prozess ist jedoch wahrscheinlich, da die Kombination der beiden Gene eine verminderte Virusreproduktion zur Folge hat, im Vergleich zu den Einzelgenen.

Die vorliegenden Ergebnisse führen zu der Schlussfolgerung, dass die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* in Gerstensorten im Moment die beste Möglichkeit zur Züchtung von toleranten bzw. quantitativ resistenten Sorten ist. Weitere bekannte Toleranz- oder Resistenzquellen sind entweder weniger effektiv, wie der QTL auf Chromosom 2HL (SCHEURER et al. 2001), bedürfen einer genaueren Charakterisierung und Entwicklung enger gekoppelter molekularer Marker, wie der QTL von KRAAKMAN et al. (2006) oder sind für die Züchtung noch nicht direkt nutzbar, wie es bei dem durch SCHOLZ et al. (2009) in *Hordeum bulbosum* identifizierten Resistenzgen *Ryd4<sup>Hb</sup>* der Fall ist.

## **4.2 Kartierung der WDV-Toleranz aus 'Post'**

### **4.2.1 Phänotypische Reaktion der DH-Populationen 'Post' x 'Vixen' I und II**

Der tolerante Elter 'Post' zeigte in den Feldversuchen nach der WDV-Inokulation noch durchschnittlich 50 % des Kornertrages der gesunden Variante und damit eine ausgeprägte Toleranz gegenüber WDV im Vergleich zu der anfälligen Sorte 'Vixen' die nach Inokulation weniger als 1 % Kornertrag der nicht-inokulierten Variante erreichte. Eine Population aus der Kreuzung dieser stark unterschiedlich reagierenden Eltern stellt einen guten Ausgangspunkt für QTL-Analysen dar. Unerwarteter weise lag der mittlere Kornertrag der Population I bei nur 8 % und bei der Population II um nur 1 % höher. Beide Populationen reagierten damit deutlich anfälliger als von der Reaktion der Eltern zu erwarten war. SCHEURER et al. (2001) konnten in der Kopplungskarte 'Post' x 'Vixen' auf den Chromosomen 3H und 5H eine Häufung von Markern mit gestörter Segregation feststellen, aber keine Überpräsenz von Vixen-Allelen, weshalb diese Ursache für die anfällige Reaktion der DH-Population 'Post' x 'Vixen' I ausgeschlossen werden kann. In den Markeranalysen der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II weisen Marker mit gestörter Segregation etwa zu 57 % eine Verschiebung zu Gunsten des 'Vixen'-Allels auf, wodurch die ausgeprägte Anfälligkeit teilweise zu erklären wäre, wenn dabei Regionen für die Toleranz gegenüber WDV betroffen sind, wofür es aber keine eindeutigen Hinweise gibt. Die beiden Populationen wurden unabhängig voneinander in unterschiedlichen *in-vitro*-Laboren erstellt, was eine Erklärung für das abweichende Verhalten sein könnte.

Da aber bisher keine Erkenntnisse über die Genetik der WDV-Toleranz der Sorte 'Post' vorliegen, könnte diese auch durch die Kombination einer Vielzahl von Minorgenen bedingt sein, die durch Kreuzung verloren gegangen ist.

### **4.2.2 Einfluss der Inokulationsbedingungen auf die Infektionsrate**

Eine Verbesserung der Infektionsrate mit WDV konnte durch eine Inokulation der DH-Linien in Kleingewächshäusern im Versuch 2008/2009 erreicht werden, nachdem der Feldversuch 2007/2008 mit Population I wegen einer mangelnden Infektionsrate (1,3 %) abgebrochen werden musste. Grund für die geringe Infektionsrate im Feldversuch könnte neben ungünstigen Witterungsbedingungen auch ein



gleichzeitiger Befall mit Blattläusen gewesen sein, der wie bei ALLA et al. (2001) beschrieben, auch einen negativen Einfluss auf die Lebensdauer von *P. alienus* haben kann. Durch die Virusinokulation im Gewächshaus konnte 2008/2009 eine um 20 % höhere Infektionsrate (70 %) erreicht werden als im Feldversuch 2006/2007, was den deutlich höheren Temperaturen (20 - 25 °C) und der gleichmäßigen Belichtung, die vermutlich positiv auf die Aktivität der Zikaden gewirkt haben, zuzurechnen ist. Es ist bekannt, dass nicht alle Zikaden das Virus auch tatsächlich übertragen. Somit ist eine nahezu vollständige Infektion der Pflanzen nur schwer möglich, insbesondere da die Anzucht von *P. alienus* mit hohem Aufwand verbunden ist und die Vermehrungsraten im Feld mit zwei Generationen pro Jahr (MANURUNG et al. 2005) deutlich geringer sind als bei den sich z. T. anholozyklisch vermehrenden Blattläusen, wie z. B. bei *R. padi*.

Zur Sicherung aussagekräftiger Versuchsergebnisse durch hohe Infektionsraten ist bei Inokulationen mit WDV insbesondere darauf zu achten, dass die Pflanzen frei von Blattläusen sind und über einen längeren Zeitraum möglichst gleichmäßiges Klima herrscht.

#### **4.2.3 Genetische Kopplungskarte der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II**

Für die Population 'Post' x 'Vixen' II wurde für die späteren QTL-Analysen eine genetische Kopplungskarte aus 73 SSR-, 3 SNP-/CAPS-, 1 RAPD-Markern und der Zeiligkeit (V) mit einer Länge von 676,6 cM erstellt. Verglichen mit publizierten Karten der Gerste, die meist zwischen 1000 und 1400 cM umfassen wie zum Beispiel von KLEINHOFs et al. (1993), COSTA et al. (2001), STEIN et al. (2007) und SATO et al. (2009) ist die Karte der Population 'Post' x 'Vixen II' relativ kurz. Dies ist u. a. auf die fast alleinige Verwendung von Mikrosatellitenmarkern zurückzuführen. Für die Gerste sind Kopplungskarten vorhanden, die mehrere Hundert SSR-Marker enthalten. Dabei handelt es sich allerdings um Consensuskarten, die aus den Ergebnissen mehrerer Populationen erstellt wurden (z. B. RAMSAY et al. 2000; STEIN et al. 2007) oder um Karten von Kreuzungspopulationen zwischen einer Kulturgerste und einer Wildgerste (*Hordeum spontaneum*, z. B. HEARNDEN et al. 2007; SATO et al. 2009). Beides sind Wege um die Polymorphie zu erhöhen und dichtere Kopplungskarten zu erstellen. Dies war allerdings nicht Gegenstand dieser Arbeit.

Für eine andere DH-Population der Kreuzung 'Post' x 'Vixen' (Population I) haben SCHEURER et al. (2001) bereits eine Karte mit hauptsächlich RAPD- und AFLP-Markern erstellt. Vergleicht man beide Karten, stimmen pro Chromosom

durchschnittlich zwei Marker (SSR) überein. Durch die Verwendung von fast ausschließlich SSR-Markern konnte in der Population II keine vollständige Genomabdeckung erreicht werden, da in manchen Bereichen keine polymorphen Marker zwischen den Eltern identifiziert werden konnten, wie z. B. auf dem langen Arm von Chromosom 5H. Eine erfolgreiche QTL-Analyse ist nach HEUN et al. (1991) allerdings auch mit unvollständigen Karten möglich.

Bei der Betrachtung der einzelnen Chromosomen erreicht, übereinstimmend mit der Karte von SCHEURER (2001), das Chromosom 2H die größte Ausdehnung. Dies konnten bereits QI et al. (1998) und HORI et al. (2005) in Karten anderer Gerstenkreuzungen beobachten. Auch das weitgehende Fehlen des langen Armes von Chromosom 5H und größere Markerabstände im Bereich des Centromers der Chromosomen 1H, 3H und 6H wurden übereinstimmend mit der Karte von SCHEURER (2001) festgestellt.

SCHEURER (2001) beobachtete in der genetischen Kopplungskarte der DH-Population 'Post' x 'Vixen' I bei einem Anteil von nur 17,6 % der Marker eine Abweichung von der 1 : 1 Spaltung der Allele, wobei sich diese hauptsächlich auf die Chromosomen 3H und 7H konzentrierten. Auffällig bei der Kopplungskarte der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II ist hingegen eine hohe Anzahl (42 %) an Markern mit gestörter Segregation, die je nach Chromosom einen höheren Anteil des 'Post'- oder 'Vixen'-Allels zeigen, wobei insgesamt die Verschiebung zu Gunsten des 'Vixen'-Allels überwiegt (57 %). Wie schon unter Punkt 4.2.1 erwähnt sind solche Beobachtungen keine Seltenheit bei in *in-vitro*-Kultur hergestellten DH-Linien-Populationen.

Zur Komplementierung und Absättigung der erarbeiteten genetischen Kopplungskarte, um insbesondere bisher fehlende Chromosomenabschnitte abzudecken, wären weitere Markeranalysen in der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II sinnvoll auch unter Berücksichtigung anderer Markersysteme, wie z. B. der DAR-Technologie (WENZL et al. 2004) oder der Hochdurchsatz SNP-Technologien (CLOSE et al. 2009).

#### 4.2.4 QTL für WDV-Toleranz und markergestützte Selektion

In der Population 'Post' x 'Vixen' I wurden bei der Analyse der zweijährigen phänotypischen Daten in Kombination mit der Karte von SCHEURER et al. (2001) QTL auf den Chromosomen 1H, 2H und 4H identifiziert. Im Unterschied zu Population I zählt Population II mit 86 Individuen 7 Linien mehr, die genetische Kopplungskarte ist deutlich kleiner und es liegen die phänotypischen Daten von nur einer Umwelt vor. In Population II wurden für verschiedene Merkmale QTL auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 4H identifiziert. Der QTL von Chromosom 1H für die relative Halmlänge stammt jeweils vom anfälligen Elter 'Vixen' und befindet sich bei den Populationen an unterschiedlichen Positionen. Der QTL für die relative Halmlänge und die Symptomausprägung auf Chromosom 2HS ('Post') liegt bei Population I im Randbereich der Kopplungskarte und kann aufgrund fehlender gemeinsamer Marker im umgebenden Bereich nicht mit dem QTL von Population II (relative Halmlänge, relativer Kornertrag u. a.) verglichen werden, in der dieser QTL die höchste Bedeutung hat. Im Gegensatz dazu kann der QTL auf Chromosom 4H ('Post'), der in Population I den größten Anteil an der Varianz in der Symptomausprägung und der relativen Halmlänge erreicht, in beiden Populationen an übereinstimmender Position nachgewiesen werden, weshalb eine Bedeutung dieses QTL für die Toleranzreaktion gegenüber WDV am wahrscheinlichsten ist.

Die detektierten QTL sind unter Berücksichtigung verschiedener Faktoren zu betrachten, die das Ergebnis der QTL-Analyse beeinflussen. Die Populationsgröße von 79 bzw. 86 Linien ist eher gering im Vergleich zu anderen Arbeiten bei der Gerste (GREWAL et al. 2008; HORI et al. 2005; LI et al. 2009; NIKS et al. 2004). Dennoch ist es möglich auch mit kleinen Populationen QTL-Analysen durchzuführen. Hierbei werden aber in der Regel nur QTL mit großer phänotypischer Bedeutung detektiert und somit die Anzahl an vorhandenen QTL, die zur Ausprägung eines Merkmales beitragen, unterschätzt. In der vorliegenden Arbeit galt es, erstmals die WDV-Toleranz zu lokalisieren, wobei nur QTL mit hoher phänotypischer Relevanz von Interesse sind, weshalb die verwendeten Populationen zu diesem Zweck und aufgrund der sehr aufwändigen Phänotypisierung als ausreichend zu betrachten sind. Eine Einflussgröße auf die Ergebnisse von QTL-Analysen ist der Markerabstand in der genetischen Karte der Population. Je geringer der Markerabstand desto präziser können QTL lokalisiert und so auch Cluster getrennt werden. Nach MANLY und OLSON (1999) sind Markerabstände von 10 bis 20 cM

erwünscht, geringere Abstände aber unnötig, da die Wahrscheinlichkeit der Detektion von QTL nicht weiter erhöht wird.

Für die markergestützte Selektion (MAS) auf WDV-Toleranz scheint derzeit der auf Chromosom 4H identifizierte QTL am geeignetsten. Der PCR-basierte Mikrosatellitenmarker HVM3 erreicht in der QTL-Analyse die höchsten Werte und wäre damit derzeit zum molekularen Nachweis des QTL auf Chromosom 4H am besten geeignet. Für den SSR-Marker HVM3 wurde bereits eine Kopplung zum Gelbmosaikvirusresistenzgen *rym11* nachgewiesen (NISSAN-AZZOUZ et al. 2005). Es ist aber aufgrund des genetischen Hintergrunds der Kreuzungseltern 'Post' und 'Vixen' und gezeigter Anfälligkeit in Feldversuchen mit BaMMV/BaYMV (HABEKUß pers. Mitteilung) kein Hinweis darauf vorhanden, dass es einen Zusammenhang zwischen der lokalisierten WDV-Toleranz an diesem Locus und *rym11* gibt.

Neben dem WDV-QTL auf Chromosom 4H sollte aufgrund der hohen LOD-Werte und Gültigkeit für alle untersuchten Merkmale, zudem Augenmerk auf den in Population II identifizierten QTL auf Chromosom 2H gelegt werden (GBM1218). Für weitere in diesen Arbeiten identifizierte QTL kann keine solche Einschätzung getroffen werden. Eventuell führen Testungen der vorhandenen Populationen in zusätzlichen Umwelten oder die Verwendung eines anderen Kreuzungspartners für die tolerante Sorte 'Post' zu deutlicheren Ergebnissen.

Wenn genaueres über die partielle WDV-Resistenz bekannt wird, die BENKOVICS et al. (2010) mit Hilfe von Real-Time PCR in zwei Winterweizensorten nachweisen konnten, dann könnten sich eventuell neue Wege eröffnen um ebenso bei der Gerste einen Fortschritt in diesem Bereich zu erzielen.

## 5 Zusammenfassung

Das blattlausübertragene *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) und das zikadenübertragene *Wheat dwarf virus* (WDV) gehören zu den wirtschaftlich wichtigsten Pathogenen im Gerstenanbau, deren Bedeutung infolge der globalen Erwärmung zukünftig weiter steigen wird.

Ziel der Arbeit war es einerseits, durch die markergestützte Kombination (Pyramidisierung) der in der Gerste gegen BYDV bekannten Toleranzallele *Ryd2*, *Ryd3* und dem QTL auf Chromosom 2HL der Sorte 'Post' Erkenntnisse über die additive Wirkung dieser Loci zu gewinnen und andererseits die in der Sorte 'Post' nachgewiesene WDV-Toleranz genetisch zu analysieren.

Für die Pyramidisierung der Toleranzallele gegen BYDV wurden DH-Linien aus einer Winter- und einer Sommergerstenkreuzung (ohne QTL 2H) erstellt. Diese wurden mit den für die entsprechenden Loci bekannten molekularen Markern genotypisiert und hinsichtlich ihres Toleranzverhaltens (Wuchs- und Ertragsparameter, Viruskonzentration) nach Inokulation mit BYDV-PAV in zweijährigen Feldversuchen an vier Standorten charakterisiert. In beiden Populationen führte die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* zu einer signifikanten Verringerung des Virusgehaltes (Virusextinktion, DAS-ELISA) und einer deutlich verringerten Infektionsrate gegenüber den genotypisch anfälligen Linien (*ryd2/ryd3*) und solchen mit den entsprechenden einzelnen positiven Allelen und damit zu einer quantitativen Resistenz gegenüber BYDV. Darüber hinaus konnte in DH-Linien der Sommergerstenkreuzung für die Kombination aus *Ryd2* und *Ryd3* eine höhere Leistung bei den Ertragsparametern wie dem relativen Kornertrag pro Pflanze, gegenüber den anderen Genotypen nachgewiesen werden. Der QTL auf Chromosom 2H hatte allgemein nur eine geringe Toleranzwirkung.

Zur Aufklärung der WDV-Toleranz der Sorte 'Post' wurden zwei DH-Populationen der Kreuzung 'Post' (tolerant) x 'Vixen' (anfällig) zur Phänotypisierung im Feldversuch mit Hilfe von virustragenden Zikaden (*Psammotettix alienus*) inokuliert und ihre Toleranz durch Wuchs- und Ertragsmerkmale ermittelt. In QTL-Analysen mit den entsprechenden genetischen Kopplungskarten wurden QTL auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 4H detektiert. Der QTL auf Chromosom 4H ist dabei in beiden Populationen übereinstimmend für die Symptomausprägung und die

relative Halmlänge im Bereich des SSR-Markers HVM3 zu finden und erklärt bis zu 32 % der phänotypischen Varianz für diese Merkmale.

## 6 Summary

*Barley yellow dwarf virus* (BYDV) and *Wheat dwarf virus* (WDV) are economically important pathogens of barley which may become even more important due to global warming. In barley several loci conferring tolerance to BYDV are known, e. g. *Ryd2*, *Ryd3* and a QTL (quantitative trait locus) on chromosome 2H. One aim of the present study was to get information whether the level of tolerance against BYDV in barley can be improved by combining these loci. Another objective was to analyse the tolerance of the cultivar 'Post' to WDV.

For combining the above mentioned tolerance loci against BYDV a winter and a spring barley population of doubled haploid (DH) lines was genotyped by molecular markers for the presence of the susceptibility or the resistance encoding allele at respective loci (*Ryd2*, *Ryd3*, QTL on chromosome 2H) and were tested for their level of BYDV-tolerance after inoculation with viruliferous (BYDV-PAV) aphids in two-years field trials at four locations. In DH-lines carrying the combination *Ryd2* and *Ryd3* a significant reduction of the virus titre and a much lower infection rate were detected compared to lines carrying only one or none of these genes. Furthermore, spring barley DH-lines with this allele combination also showed a significantly higher relative grain yield compared to lines carrying only *Ryd2* or *Ryd3*. Overall these results show that the combination of *Ryd2* and *Ryd3* leads to quantitative resistance against BYDV-PAV.

For analysis of the tolerance to WDV detected in the cultivar 'Post' two DH-line populations of the cross 'Post' (tolerant) x 'Vixen' (susceptible) were phenotyped in field trails after inoculation with WDV carrying leafhoppers (*Psammotettix alienus*). QTL were detected on chromosome 1H, 2H, 3H and 4H. The most important one is the QTL for symptom score and relative plant height on chromosome 4H, which was detected at the position of the SSR-marker HVM3 in both populations and explained up to 32 % of the phenotypic variance.

## 7 Literatur

- ALLA S., MOREAU J.P., FREROT B. (2001): Effects of the aphid *Rhopalosiphum padi* on the leafhopper *Psammotettix alienus* under laboratory conditions. *Entomologia Experimentalis et Applicata* 98(2): 203-209.
- AYALA L., HENRY M., VAN GINKEL M., SINGH R., KELLER B., KHAIRALLAH M. (2002): Identification of QTLs for BYDV tolerance in bread wheat. *Euphytica* 128(2): 249-259.
- BALAJI B., BUCHOLTZ D.B., ANDERSON J.M. (2003): *Barley yellow dwarf virus* and *Cereal yellow dwarf virus* Quantification by Real-Time Polymerase Chain Reaction in Resistant and Susceptible Plants. *Phytopathology* 93(11): 1386-1392.
- BALTENBERGER D.E., OHM H.W., FOSTER J.E. (1987): Reactions of Oat, Barley, and Wheat to Infection with Barley Yellow Dwarf Virus Isolates. *Crop Science* 27(2): 195-198.
- BANKS P.M., WATERHOUSE P.M., LARKIN P.J. (1992): Pathogenicity of 3 RPV isolates of Barley Yellow Dwarf Virus on barley, wheat and wheat alien addition lines. *Annals of Applied Biology* 121(2): 305-314.
- BARKER H., HARRISON B.D. (1986): Restricted distribution of potato leafroll virus antigen in resistant potato genotypes and its effect on transmission of the virus by aphids. *Annals of Applied Biology* 109(3): 595-604.
- BECKER H. (2011): *Pflanzenzüchtung*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- BECKER J., HEUN M. (1995): Barley Microsatellites - Allele Variation and Mapping. *Plant Molecular Biology* 27(4): 835-845.
- BECKERT M. (1998): Genetic Analysis of in vitro Androgenetic Response in Maize. In: CHUPEAU Y., CABOCHE M., HENRY Y. (Hrsg.): *Androgenesis and haploid plants*. Springer-Verlag, Berlin Heidelberg.
- BENDAHMANE M., SCHALK J., GRONENBORN B. (1995): Identification and characterization of wheat dwarf virus from France using a rapid method for geminivirus DNA preparation. *Phytopathology* 85: 1449-55.
- BENKOVICS A.H., VIDA G., NELSON D., VEISZ O., BEDFORD I., SILHAVY D., BOULTON M.I. (2010): Partial resistance to *Wheat dwarf virus* in winter wheat cultivars. *Plant Pathology* 59: 1144-1151.
- BENNETT M.D., LEITCH I.J. (1995): Nuclear-DNA Amounts in Angiosperms. *Annals of Botany* 76(2): 113-176.

- BLAKE T.K., KADYRZHANOVA D., SHEPHERD K.W., ISLAM A.K.M.R., LANGRIDGE P.L., McDONALD C.L., ERPELDING J., LARSON S., BLAKE N.K., TALBERT L.E. (1996): STS-PCR markers appropriate for wheat-barley introgression. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 826-832.
- BMELV (2012): 2. Vorläufiges Ernteergebnis von Getreide nach Ländern. Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz. [www.bmelv-statistik.de](http://www.bmelv-statistik.de), Stand 28.01.2013.
- BOTSTEIN D., WHITE R.L., SKOLNICK M., DAVIS R.W. (1980): Construction of A Genetic-Linkage Map in Man Using Restriction Fragment Length Polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32(3): 314-331.
- BOULTON M.I. (2002): Functions and interactions of mastrevirus gene products. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 60(5): 243-255.
- BROWN, A.H.D., GARVIN D.F., BURDON J.J., ABBOTT D.C., READ B.J. (1996): The effect of combining scald resistance genes on disease levels, yield and quality traits in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 93: 361-366.
- BROWN A.R., JOHNSON J.W., ROTHROCK C.S., BRUCKNER P.L. (1988): Registration of Venus Barley. *Crop Science* 28(4): 718-719.
- BRUEHL G.W. (1961): Barley Yellow Dwarf. Monograph No.1. The American Phytopathological Society, p. 52.
- BURNETT P.A. (Hrsg.) (1984): Barley Yellow Dwarf, a Proceeding of the Workshop. CIMMYT. Mexiko, D.F., p 209.
- CASTILLO A.M., CISTUE L., ROMAGOSA I., VALLES M.P. (2001): Low responsiveness of six-row barley genotype to androgenesis in not does have a pleiotropic basis. *Genome* 44: 936-940.
- CASTRO A., CHEN X., COREY A.E., FILICHKINA T., HAYES P. M., MUNDT C., RICHARDSON K., SANDOVAL-ISLAS S., VIVAR H. (2003a): Pyramiding and validation of Quantitative Trait Locus (QTL) alleles determining resistance to barley stripe rust: effects on adult plant resistance. *Crop Science* 43: 2234-2239.
- CASTRO A., CAPETTINI F., COREY A., FILICHKIA T., HAYES P.M., KLEINHOF S., KUDRNA D., RICHARDSON K., SANDOVAL-ISLAS S., ROSSI C., VIVAR H. (2003b): Mapping and pyramiding of qualitative and quantitative resistance to stripe rust in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 922-930.
- CATHERALL P.L., JONES A.T., HAYES J.D. (1970): Inheritance and effectiveness of genes in barley that condition tolerance to barley yellow dwarf virus. *Annals of Applied Biology* 65: 153–161.



- CATHERALL P.L., HAYES J.D., BOULTON R.E. (1977): Breeding cereals resistant to virus diseases in Britain. *Annals of Phytopathology* 9: 241-244.
- CATHERALL P.L., WILKINS P.W. (1977): Barley Yellow Dwarf Virus in Relation to Breeding and Assessment of Herbage Grasses for Yield and Uniformity. *Euphytica* 26(2): 385-391.
- CHALHOUB B.A., SARRAFI A., LAPIERRE H.D. (1995): Partial resistance in the barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivar 'Chikurin-Ibaraki-1' to two PAV-like isolates of *Barley yellow-dwarf virus*: allelic variability at the *Yd2* gene locus. *Plant Breeding* 114: 303–307.
- CHOO T.M., REINBERGS E., KASHA K.J. (1985): Use of haploids in breeding barley. In: *Plant Breeding Reviews* 3: 219-251.
- CLARK M.F., ADAMS A.N. (1977): Characteristics of Microplate Method of Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Detection of Plant Viruses. *Journal of General Virology* 34: 475-483.
- CLOSE T.J., BHAT P.R., LONARDI S., WU Y.H., ROSTOKS N., RAMSAY L., DRUKA A., STEIN N., SVENSSON J.T., WANAMAKER S., BOZDAG S., ROOSE M.L., MOSCOU M.J., CHAO S.A.M., VARSHNEY R.K., SZUCS P., SATO K., HAYES P.M., MATTHEWS D.E., KLEINHOF S.A., MUEHLBAUER G.J., DEYOUNG J., MARSHALL D.F., MADISHETTY K., FENTON R.D., CONDAMINE P., GRANER A., WAUGH R. (2009): Development and implementation of high-throughput SNP genotyping in barley. *BMC Genomics* 10.
- COLLINS N.C., PALTRIDGE N.G., FORD C.M., SYMONS R.H. (1996): The *Yd2* gene for barley yellow dwarf virus resistance maps close to the centromere on the long arm of barley chromosome 3. *Theoretical and Applied Genetics* 92(7): 858-864.
- COOPER J.I., JONES A.T. (1983): Responses of Plants to Viruses - Proposals for the Use of Terms. *Phytopathology* 73(2): 127-128.
- COSTA J.M., COREY A., HAYES P.M., JOBET C., KLEINHOF S.A., KOPISCH-OBUSCH A., KRAMER S.F., KUDRNA D., LI M., RIERA-LIZARAZU O., SATO K., SZUCS P., TOOJINDA T., VALES M.I., WOLFE R.I. (2001): Molecular mapping of the Oregon Wolfe Barleys: a phenotypically polymorphic doubled-haploid population. *Theoretical and Applied Genetics* 103: 415-424.
- D'ARCY C.J. (1995): Symptomatology and Host Range of Barley Yellow Dwarf. In: D'ARCY C.J., BURNETT P.A. (Hrsg.) *Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress*, APS Press, pp. 9-28.

- D'ARCY C.J., HEWINGS A.D. (1986): Enzyme-linked immunosorbent assays for study of serological relationships and detection of three luteoviruses. *Plant Pathology* 35: 288-293.
- DEADMAN M.L. (2006): Epidemiological consequences of plant disease resistance. In: COOKE B.M., GARETH JONES D., KAYE B. (Hrsg.): *The Epidemiology of Plant Diseases*. Springer-Verlag Dordrecht, Niederlande, pp.139-157.
- DELSERONE L.M., COLE H., FRANK J.A. (1987): The effects of infections by *Pyrenophora teres* and *Barley yellow dwarf virus* on the freezing hardiness of winter barley. *Phytopathology* 77: 1435-1437.
- DOMIER L.L. (2008): Barley Yellow Dwarf Virus. in: MAHY B.W.J., REGENMORTAL VAN M.H.V. (Hrsg.), *Encyclopedia of Virology*, Elsevier LTD, Oxford, pp. 279-286.
- DUFOUR P., JOHNSSON C., ANTOINE-MICHARD S., CHENG R., MURIGNEUX A., BECKERT M. (2001): Segregation distortion at marker loci: variation during microspore embryogenesis in maize. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 993–1001.
- EDWARDS M.C., STEFFENSON B.J. (1996): Genetics and Mapping of Barley Stripe Mosaic Virus Resistance in Barley. *Phytopathology* 86: 184-187.
- ESAU K. (1957): Phloem degeneration in Gramineae affected by the Barley yellow-dwarf virus. *American Journal of Botany* 44(3): 245-251.
- ERLUND P. (2007): Experiences of Wheat dwarf virus in Finland 2004-2007. Report of NJF Seminar 402, Virus vector management in a changing climate, Kristianstad, Sweden, 09.-11.10.2007, p. 51.
- FABRE F., KERVARREC C., MIEUZET L., RIAULT G., VIALATTE A., JACQUOT E. (2003): Improvement of *Barley yellow dwarf virus*-PAV detection in single aphids using a fluorescent real time RT-PCR. *Journal of Virological Methods* 110(1): 51-60.
- FORD C.M., PALTRIDGE N.G., RATHJEN J.P., MORITZ R.L., SIMPSON R.J., SYMONS R.H. (1998): Rapid and informative assays for *Yd2*, the barley yellow dwarf virus resistance gene, based on the nucleotide sequence of a closely linked gene. *Molecular Breeding* 4(1): 23-31.
- FRIEDT W., ORDON F. (2007): Molecular markers for gene pyramiding and disease resistance breeding in barley. In: VARSHNEY R.K., TUBEROS R. (Hrsg.): *Genomics-Assisted Crop Improvement, Band 2: Applications in Crop*. Springer, pp. 81-101.
- FRIEDT W., WERNER K., PELLIO B., WEISKORN C., KRÄMER M., ORDON F. (2003): Strategies of Breeding for Durable Disease Resistance in Cereals. *Progress in Botany* 64: 138-176.

- GEISSLER K., PROESELER G., LEHMANN C. (1989): Resistance properties in barley and wheat varieties from the Gatersleben collection. 28. Testing barley for its response to the aphid species *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Macrosiphum (Sitobion) avenae* (F.). Kulturpflanze 37: 155-161.
- GILL C.C., CHONG J. (1979): Cytopathological evidence for the division of Barley yellow dwarf virus isolates into two subgroups. Virology 95: 59-69.
- GRANER A., JAHOOOR A., SCHONDELMAIER J., SIEDLER H., PILLEN K., FISCHBECK G., WENZEL G., HERRMANN R.G. (1991): Construction of an RFLP map of barley. Theoretical and Applied Genetics 83(2): 250-256.
- GREWAL T.S., ROSSNAGEL B.G., POZNIAK C.J., SCOLES G.J. (2008): Mapping quantitative trait loci associated with barley net blotch resistance. Theoretical and Applied Genetics 116(4): 529-539.
- González J.M., Muñiz L.M., Jouve N. (2005): Mapping of QTLs for androgenetic response based on a molecular genetic map of  $\times$  *Triticosecale* Wittmack. Genome 48(6): 999-1009.
- GOUIS LE J., DEVAUX P., WERNER K., HARIRI D., BAHRMAN N., BÉGHIN D., 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(8): 1521-1525.
- HABEKUß A.: persönliche Mitteilung.
- HABEKUß A., PROESELER G., SCHLIEPHAKE E., FISCHER C. (2000): Resistance of apple to spider mites and aphids. Proceedings of the Eucarpia Symposium on Fruit Breeding and Genetics 538: 271-276.
- HABEKUß A., RIEDEL C., SCHLIEPHAKE E., ORDON F. (2009): Breeding for resistance to insect-transmitted viruses in barley - an emerging challenge due to global warming. Journal of Cultivated Plants 61(2): 53-61.
- HABEKUß A., SCHLIEPHAKE E., MATTHES P., HARTLEB H., MEHNER S., GRÜNZIG M., FUCHS E. (2002): Zum Auftreten des Gerstengelbverzweigungsvirus und seiner Vektoren in Sachsen-Anhalt. Tagungsband der 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. pp.111-114.
- HABER S. (1995): Interactions of Barley Yellow Dwarf Viruses: Cross-Protection and Interactions with other Pathogens and with Abiotic Factors. In: D'ARCY C.J., BURNETT P.A. (Hrsg.) Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress. APS Press, pp. 145-161.

- HACK H., BLEIHOLDER H., BUHR L., MEIER U., SCHNOCK-FRICKE U., WEBER E., WITZENBERGER A. (1992): Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. – Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein. Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes 44(12): 265-270.
- HALBERT S., VOEGTLIN D. (1995): Biology and Taxonomy of Vectors of Barley Yellow Dwarf Viruses. In: D'ARCY C.J., BURNETT P.A. (Hrsg.): Barley Yellow Dwarf-40 Years of Progress. APS Press, St. Paul, pp. 217-258.
- HALDANE J.B.S. (1919): The combination of linkage values, and the calculation of distances between the loci of linked factors. Journal of Genetics 8(4): 299-309.
- HAN F., KLEINHOF S. A., ULLRICH S.E., KILIAN A., YANO M., SASAKI T. (1998): Synteny with rice: Analysis of barley malting quality QTLs and *rpg4* chromosome regions. Genome 41: 373-380.
- HARRINGTON R. (2003): Turning up the heat on pests and diseases: a case study of *Barley yellow dwarf virus*. In: Proceedings of British Crop Protection Council International Congress: Crop Science and Technology. Vol. 2, Glasgow, UK, pp. 1195-1200.
- HARRINGTON R., CLARK S.J., WELHAM S.J., VARRIER P.J., DENHOLM C.H., HULLE M., MAURICE D., ROUNSEVELL M.D., COCU N. (2007): Environmental change and the phenology of European aphids. Global Change Biology 13: 1550–1564.
- HAYDEN M.J., NGUYEN T.M., WATERMAN A., MCMICHAEL G.L., CHALMERS K.J. (2008): Application of multiplex-ready PCR for fluorescence-based SSR genotyping in barley and wheat. Molecular Breeding 21(3): 271-281.
- HAYES P.M., CASTRO A., MARQUEZ-CEDILLO L., COREY A., HENSON C., JONES B., KLING J., MATHER D., MATUS I., ROSSI C., SATO K. (2001): A summary of published barley QTL reports. [www.barleyworld.org](http://www.barleyworld.org), Stand 08.09.2011.
- HAYES R.J., MACDONALD H., COUTTS R.H.A., BUCK K.W. (1988): Agroinfection of *Triticum aestivum* with cloned DNA of wheat dwarf virus. Journal of General Virology 69: 891-896.
- HEARNDEN P.R., ECKERMANN P.J., MCMICHAEL G.L., HAYDEN M.J., EGLINTON J.K., CHALMERS K.J. (2007): A genetic map of 1,000 SSR and DArT markers in a wide barley cross. Theoretical and Applied Genetics 115: 383-391.
- HENRY, Y., VAIN P., DE BUYSER J. (1994): Genetic analysis of *in vitro* plant tissue culture responses and regeneration capacities. Euphytica 79: 45-48.

- HEUN M., KENNEDY A.E., ANDERSON J.A., LAPITAN N.L.V., SORRELLS M.E., TANKSLEY S.D. (1991): Construction of a restriction fragment length polymorphism map for barley (*Hordeum vulgare*). *Genome* 34(3): 437-447.
- HistoKomp (2011): Die Jungsteinzeit – Neolithikum. [www.histokomp.de/vorgeschichte-jungsteinzeit.php](http://www.histokomp.de/vorgeschichte-jungsteinzeit.php), Stand 01.12.2011.
- HITTALMANI S., PARCO A., MEW T.V., ZEIGLER R.S., HUANG N. (2000): Fine mapping and DNA marker-assisted pyramiding of the three major genes for blast resistance in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 1121-1128.
- HORI K., KOBAYASHI T., SATO K., TAKEDA K. (2005): QTL analysis of Fusarium head blight resistance using a high-density linkage map in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 111(8): 1661-1672.
- HUANG N., ANGELES E.R., DOMINGO J., MAGPANTAY G., SINGH S., BENNETT J., KHUSH G.S. (1997): Pyramiding of bacterial blight resistance genes via DNA marker-aided selection in rice. *Theoretical and Applied Genetics* 95: 313–320.
- HUTH W. (1994): Weizenverzwergung - bisher übersehen? *Pflanzenschutz-Praxis* 4: 37-39.
- HUTH W. (2002): Faktoren, welche die Ausbreitung der Verzwergungsviren im Getreide fördern und Maßnahmen, welche eine Schadensbegrenzung ermöglichen. Tagungsband der 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs. pp. 95-98.
- JACCOUD D., PENG K., KILIAN A. (2001): Diversity Arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. *Nucleic Acid Research* 29(4): e25.
- JAFARY H., SZABO L.J., NIKS R.E. (2006): Innate Nonhost Immunity in Barley to Different Heterologous Rust Fungi is Controlled by Sets of Resistance Genes with Different and Overlapping Specificities. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 19(11): 1270-1279.
- JAHIER J., CHAIN F., BARLOY D., TANGUY A.M., LEMOINE J., RIAULT G., MARGALE E., TROTTET M., JACQUOT E. (2009): Effect of combining two genes for partial resistance to *Barley yellow dwarf virus-PAV* (BYDV-PAV) derived from *Thinopyrum intermedium* in wheat. *Plant Pathology* 58(5): 807-814.
- JANSEN R.C. (1993): Interval Mapping of Multiple Quantitative Trait Loci. *Genetics* 135(1): 205-211.
- JEFFERIES S.P., KING B.J., BARR A.R., WARNER P., LOGUE S.J., LANGRIDGE P. (2003): Marker-assisted backcross introgression of the *Yd2* gene conferring resistance to barley yellow dwarf virus in barley. *Plant Breeding* 122(1): 52-56.

- JENSEN S.G. (1969): Occurrence of virus particles in the phloem tissue of BYDV-infected barley. *Virology* 38: 83-91.
- JENSEN S.G., D'ARCY C.J. (1995): Effects of Barley Yellow Dwarf on Host Plants. In: D'ARCY C.J., BURNETT P.A. (Hrsg.) *Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress*, APS Press, pp. 55-74.
- JIN H., DOMIER L.L., KOLB F.L., BROWN C.M. (1998): Identification of Quantitative Loci for Tolerance to Barley Yellow Dwarf Virus in Oat. *Phytopathology* 88(5): 410-415.
- JONES R.A.C. (2009): Plant virus emergence and evolution: origins, new encounter scenarios, factors driving emergence, effects of changing world conditions, and prospects for control. *Virus Research* 141: 113-130.
- JOSHI R.K., NAYAK S. (2010): Gene pyramiding – A broad spectrum technique for developing durable stress resistance in crops. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 5(3): 51-60.
- KAI H., TAKATA K., TSUKAZAKI M., FURUSHO M., BABA T. (2012): Molecular mapping of *Rym17*, a dominant and *rym18* a recessive barley yellow mosaic virus (BaYMV) resistance genes derived from *Hordeum vulgare* L.. *Theoretical and Applied Genetics* 124(3): 577-583.
- KASHA K.J., KAO K.N. (1970): High frequency haploid production in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Nature* 225: 874-876.
- KEGLER H., FRIEDT W. (1993): *Resistenz von Kulturpflanzen gegen pflanzenpathogene Viren*. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- KILIAN A., KUDRNA D.A., KLEINHOF S. A., YANO M., KURATA N., STEFFENSON B., SASAKI T. (1995): Rice-barley synteny and its application to saturation mapping of the barley *Rpg1* region. *Nucleic Acids Research* 23: 2729-2733.
- KIYOSAWA S. (1982): Genetic and epidemiological modelling of breakdown of plant disease. *Annual Review of Phytopathology* 20: 93-117.
- KLEINHOF S. A. (2000): The future of barley genetics. In: LOGUE S. (Hrsg.) 8<sup>th</sup> International Barley Genetics Symposium, Volume I, Adelaide, South Australia, pp. 6-10.
- KLEINHOF S. A., KILIAN A., MAROOF M.A.S., BIYASHEV R.M., HAYES P., 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., STEFFENSON B.J. (1993): A molecular, isozyme and morphological map of the barley (*Hordeum vulgare*) genome. *Theoretical and Applied Genetics* 86(6): 705-712.

- KLOPPERS F.J., PRETORIUS Z.A. (1997): Effects of combinations amongst *Lr13*, *Lr34* and *Lr37* on components of resistance in wheat to leaf rust. *Plant Pathology* 46: 737-750.
- KÖKLÜ G., RAMSELL J.N.E., KVARNHEDEN A. (2007): The complete genome sequence for a Turkish isolate of *Wheat dwarf virus* (WDV) from barley confirms the presence of two distinct WDV strains. *Virus Genes* 34: 359-366.
- KOIDE Y., KAWASAKI A., TELEBANCO-YANORIA M. J., HAIRMANSIS A., NGUYET N. T. M., BIGIRIMANA J., FUJITA D., KOBAYASHI N., FUKUTA Y. (2010): Development of pyramided lines with two resistance genes, *Pish* and *Pib*, for blast disease (*Magnaporthe oryzae* B. Couch) in rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Breeding* 129: 670-675. doi: 10.1111/j.1439-0523.2010.01781.x.
- KONG L., ANDERSON J.M., OHM H.W. (2009): Segregation distortion in common wheat of a segment of *Thinopyrum intermedium* chromosome 7E carrying Bdv3 and development of a *Bdv3* marker. *Plant Breeding* 128(6): 591-597.
- KOSAMBI D. (1944): The estimation of map distances from recombination values. *Annals of Eugenics* 12(3): 172-175.
- KRAAKMAN A.T.W., MARTINEZ F., MUSSIRALIEV B., VAN EEUWIJK F.A., NIKS R.E. (2006): Linkage disequilibrium mapping of morphological, resistance, and other agronomically relevant traits in modern spring barley cultivars. *Molecular Breeding* 17(1): 41-58.
- LAFRAMBOISE T. (2009): Single nucleotide polymorphism arrays: a decade of biological, computational and technological advances. *Nucleic Acids Research* 37(13): 4181-4193.
- LANDER E.S., BOTSTEIN D. (1989): Mapping Mendelian Factors Underlying Quantitative Traits Using RFLP Linkage Maps. *Genetics* 121(1): 185-199.
- LAPIERRE H., COUSIN M.T.H., GIUSTINA W.D., MOREAU J.P., KNOGALI M., ROUX J., GELIE B., OLLIER E. (1991): Agent pathogène et vecteur. *Phytoma* 432: 26-28.
- LARKIN P.J., BANKS P.M., LAGUDAH E.S., APPELS R., XIAO C., XIN Z.Y., OHM H.W., MCINTOSH R.A. (1995): Disomic *Thinopyrum-Intermedium* Addition Lines in Wheat with Barley Yellow Dwarf Virus-Resistance and with Rust Resistances. *Genome* 38(2): 385-394.
- LARKIN P.J., YOUNG M.J., GERLACH W.L., WATERHOUSE P.M. (1991): The Yd2 resistance to Barley yellow dwarf virus is effective in barley plants but not in their leaf protoplasts. *Annals of Applied Biology* 118(1): 115-125.

- LI H.B., ZHOU M.X., LIU C.J. (2009): A major QTL conferring crown rot resistance in barley and its association with plant height. *Theoretical and Applied Genetics* 118(5): 903-910.
- LI J.Z., SIAKSTE T.G., RÖDER M.S., GANAL M.W. (2003): Development and genetic mapping of 127 new microsatellite markers in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 107(6): 1021-1027.
- LINDBLAD M., WAEREN P. (2002): Correlation of wheat dwarf incidence to winter wheat cultivation practices. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 92: 115-122.
- LINDSTEN K., VÄCKE J., GERHARDSON B. (1970): A preliminary report on three cereal virus diseases new to Sweden spread by *Macrostelus*- and *Psammotettix* leafhoppers. *Meddelanden / Statens växtskyddsanstalt, Stockholm*. Band 14, pp. 281-297.
- LING K.S., ZHU H.Y., GONSALVES D. (2008): Resistance to *Grapevine leafroll associated virus-2* is conferred by post-transcriptional gene silencing in transgenic *Nicotiana benthamiana*. *Transgenic Research* 17(4): 733-740.
- LISTER R.M., RANIERI R. (1995): Distribution and Economic Importance of Barley Yellow Dwarf. In: D'Arcy C.J., Burnett P.A.: *Barley Yellow Dwarf - 40 Years of Progress*. APS Press, St. Paul, 29-53.
- LIU J., LIU D., TAO W., LI W., WANG S., CHEN P., CHENG S., GAO D. (2000): Molecular marker-facilitated pyramiding of different genes for powdery mildew resistance in wheat. *Plant Breeding* 119: 21-24.
- LIU Z.W., BIYASHEV R.M., 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.
- LOBO I., SHAW K. (2008): Thomas Hunt Morgan, genetic recombination and gene mapping. *Nature Education* 1 (1).
- LUDLOW E.J., MOURADOV A., SPANGENBERG G.C. (2009): Post-transcriptional gene silencing as an efficient tool for engineering resistance to white clover mosaic virus in white clover (*Trifolium repens*). *Journal of Plant Physiology* 166(14): 1557-1567.
- MANLY K.F., OLSON J.M. (1999): Overview of QTL mapping software and introduction to Map Manager QT. *Mammalian Genome* 10(4): 327-334.
- MANO Y., SAYED-TABATABAEI B.E., GRANER A., BLAKE T., TAKAIWA F., OKA S., KOMATSUDA T. (1999): Map construction of sequence-tagged sites (STSs) in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 98: 937-946.



- MANURUNG B., WITSACK W., MEHNER S., GRUNTZIG M., FUCHS E. (2005): Studies on biology and population dynamics of the leafhopper *Psammotettix alienus* Dahlb. (Homoptera: Auchenorrhyncha) as vector of Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 112(5): 497-507.
- MAYER K.F., MARTIS M., HEDLEY P.E., SIMKOVA H., LIU H., MORRIS J.A., STEUERNAGEL B., TAUDIEN S., ROESSNER S., GUNDLACH H., KUBALAKOVA M., SUCHANKOVA P., MURAT F., FELDER M., NUSSBAUMER T., GRANER A., SALSE J., ENDO T., SAKAI H., TANAKA T., ITOH T., SATO K., PLATZER M., MATSUMOTO T., SCHOLZ U., DOLEZEL J., WAUGH R., STEIN N. (2011): Unlocking the Barley Genome by Chromosomal and Comparative Genomics. *The Plant Cell* 23: 1249-1263.
- MCGRATH P.F., VINCENT J.R., LEI C.H., PAWLOWSKI W.P., TORBERT K.A., GU W., KAEPLER H.F., WAN Y., LEMAUX P.G., RINES H.R., SOMERS D.A., LARKINS B.A., LISTER R.M. (1997): Coat protein-mediated resistance to isolates of barley yellow dwarf in oats and barley. *European Journal of Plant Pathology* 103(8): 695-710.
- MEHNER S., MANURUNG B., GRUNTZIG M., HABEKUSS A., WITSACK W., FUCHS E. (2003): Investigations into the ecology of the Wheat dwarf virus (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz-Journal of Plant Diseases and Protection* 110(4): 313-323.
- MEHNER S. (2005): Zur Ökologie des Wheat dwarf virus (WDV) in Sachsen-Anhalt. Dissertation, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg.
- MEUDT H.M., CLARKE A.C. (2007): Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses and advances. *Trends in Plant Science* 12(3): 106-117.
- MILLER W.A., RASOCHOVA L. (1997): Barley Yellow Dwarf Viruses. *Annual Review of Phytopathology* 35: 167-190.
- MIYAZAKI C., OSANAI E., SAEKI K., ITO K., KONISHI T., SATO K., SAITO A. (2001): Mapping of quantitative trait loci conferring resistance to barley yellow mosaic virus in a Chinese barley landrace Mokusekko 3. *Breeding science* 51: 171-177.
- NAGAICH B.B. (1963): Barley yellow dwarf: a new viral disease for India. *Indian Phytopathology* 16: 318-319.
- NAJAR A., MAKKOUK K.M., BOUDHIR H. (2000): Viral diseases of cultivated legume and cereal crops in Tunisia. *Phytopathologia Mediterranea* 39: 423-432.
- NARAYANAN N.N., BAISAKH N., OLIVIA N.P., VERA CRUZ C.M., GNANAMANICKAM S.S., DATTA K., DATTA S.K. (2003): Molecular breeding: marker-assisted selection

- combined with biolistic transformation for blast and bacterial blight resistance in Indica rice (cv. CO39). *Molecular Breeding* 14(1): 61-71.
- NEUHÄUSER M., JÖCKEL K.-H. (2006): A Bootstrap Test for the Analysis of Microarray Experiments with a Very Small Number of Replications. *Applied Bioinformatics* 5: 173-179.
- NIKS R.E., HABEKUSS A., BEKELE B., ORDON F. (2004): A novel major gene on chromosome 6H for resistance of barley against the barley yellow dwarf virus. *Theoretical and Applied Genetics* 109(7): 1536-1543.
- NISSAN-AZZOUZ F., GRANER A., FRIEDT W., ORDON F. (2005): Fine-mapping of the BaMMV, BaYMV-1 and BaYMV-2 resistance of barley (*Hordeum vulgare*) accession 'PI1963'. *Theoretical and Applied Genetics* 110: 212-218.
- OBERFORSTER M. (2002): Viröse Gelbverzwergung bei Wintergetreide in Österreich – Sortenreaktion und Gegenstrategien. Bericht über die 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs BAL Gumpenstein, 26.-28. November, pp. 99-106.
- OHM H., ANDERSON J. (2007): Utilization and performance in wheat of yellow dwarf virus resistance transferred from *Thinopyrum intermedium*. *Wheat Production in Stressed Environments* 12: 149-152.
- OLIPHANT A., BARKER D.L., STUELPNAGEL J.R., CHEE M.S. (2002): BeadArray™ Technology: Enabling an Accurate, Cost-Effective Approach to High-Throughput Genotyping. *BioTechniques* 32: 56-61.
- ORDON F. (2009): Disease and Pest resistance genes. Coordinator's Report. Barley Genetics Newsletter 39: 59-69. [Wheat.pw.usda.gov/ggpages/bgn](http://Wheat.pw.usda.gov/ggpages/bgn)
- ORDON F., HABEKUSS A., KASTIRR U., RABENSTEIN F., KÜHNE T. (2009): Virus Resistance in Cereals: Sources of Resistance, Genetics and Breeding. *Journal of Phytopathology* 157: 535-545.
- ORDON F., BAUER E., FRIEDT W., GRANER A. (1995): Marker-based selection for the ym4 BaMMV-resistance gene in barley using RAPDs. *Agronomie* 15: 481-485.
- OSWALD J.W., HOUSTON B.R. (1951): A New Virus Disease of Cereals, Transmissible by Aphids. *Plant Disease Report* 35(11): 471-475.
- OVESNA J., VACKE J., KUCERA L., CHRPOVA J., NOVAKOVA I., JAHOR A., SIP V. (2000): Genetic analysis of resistance in barley to barley yellow dwarf virus. *Plant Breeding* 119(6): 481-486.
- PALMER C.E.D., KELLER W.A. (2005): Challenges and Limitations to the Use of Haploidy in the Crop Improvement. In: *Biotechnology in Agriculture and Forestry - Vol. 56*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg.

- PALTRIDGE N.G., COLLINS N.C., BENDAHMANE A., SYMONS R.H. (1998): Development of YLM, a codominant PCR marker closely linked to the *Yd2* gene for resistance to barley yellow dwarf disease. *Theoretical and Applied Genetics* 96(8): 1170-1177.
- PARRY A.L., HABGOOD R.M. (1986): Field assessment of the effectiveness of a barley yellow dwarf virus resistance gene following its transference from spring to winter barley. *Annals of Applied Biology* 108(2): 395-401.
- PENNAZIO S., ROGGERO P., CONTI M. (1996): Yield losses in virus-infected crops. *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 30 (4): 283-296.
- PEROVIC D., STEIN N., ZHANG H., DRESCHER A., PRASAD M., KOTA R., KOPAHNKE D., GRANER, A. (2004): An integrated approach for comparative mapping in rice and barley with special reference to the *Rph16* resistance locus. *Functional & Integrative Genomics* 4(2): 74-83.
- PILLEN K. (2001): Der Einsatz von DNA-Markern in der Genomforschung der Gerste unter besonderer Berücksichtigung der AB-QTL-Analyse. Habilitationsschrift, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn.
- PILLEN K., BINDER A., KREUZKAM B., RAMSAY L., WAUGH R., FORSTER J., LEON J. (2000): Mapping new EMBL-derived barley microsatellites and their use in differentiating German barley cultivars. *Theoretical and Applied Genetics* 101(4): 652-660.
- POWER A.G., GRAY S.M. (1995): Aphid transmission of Barley yellow dwarf viruses: Interactions between viruses, vectors, and host plants. In: D'ARCY C.J., BURNETT P.A. (Hrsg.) *Barley Yellow Dwarf: 40 Years of Progress*, APS Press, pp. 259-289.
- PROESELER G., HABEKUß A., KRÄMER I., SCHLIEPHAKE E., KOPAHNKE D., WALTHER U., LIND V. (2002): Evaluation of barley and wheat genetic resources on resistance against selected pests. *Beiträge zur Züchtungsforschung - Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen* 8(1): 63-70.
- QI X., STAM P., LINDHOUT P. (1998): Use of locus-specific AFLP markers to construct a high-density molecular map in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 96: 376-384.
- RADEMACHER B.V., SCHWARZ R. (1958): Die Rotblättrigkeit oder Blattröte des Hafers - eine Viruskrankheit (*Hordeumvirus nanescens*). *Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz - Journal of Plant Diseases and Protection* 65: 641-650.

- RAFALSKI J.A. (2002): Novel genetic mapping tools in plants: SNPs and LD-based approaches. *Plant Science* 162(3): 329-333.
- RAMSAY L., MACAULAY M., IVANISSEVICH S.D., MACLEAN K., CARDLE L., FULLER J., EDWARDS K.J., TUVESSEON S., MORGANTE M., MASSARI A., MAESTRI E., MARMIROLI N., SJAKSTE T., GANAL M., POWELL W., WAUGH R. (2000): A Simple Sequence Repeat-Based Linkage Map of Barley. *Genetics* 156(4): 1997-2005.
- RAMSELL J.N.E., BOULTON M.I., MARTIN D.P., VALKONEN J.P.T., KVARNHEDEN A. (2009): Studies on the host range of the barley strain of *Wheat dwarf virus* using an agroinfectious viral clone. *Plant Pathology* 58(6): 1161-1169.
- RANIERI R., LISTER R.M., BURNETT P.A. (1993): Relationships between Barley yellow dwarf virus titer and symptom expression in barley. *Crop Science* 33(5): 968-973.
- RASMUSSESON D.C., SCHALLER C.W. (1959): The Inheritance of Resistance in Barley to the Yellow-Dwarf Virus. *Agronomy Journal* 51(11): 661-664.
- ROCHOW W.F. (1958): Barley yellow dwarf virus disease of oats in New York. *Plant Disease Report* 42: 36-41.
- ROCHOW W.F. (1959): Transmission of strains of barley yellow dwarf virus by two aphid species. *Phytopathology* 49: 744-748.
- ROCHOW W.F. (1961): The barley yellow dwarf virus disease of small grains. *Advances in Agronomy* 13: 217-248.
- ROCHOW W.F. (1969): Biological properties of 4 isolates of Barley yellow dwarf virus. *Phytopathology* 59(11): 1580.
- ROCHOW W.F., BRAKKE M.K. (1964): Purification of Barley Yellow Dwarf Virus. *Virology* 24: 310-322.
- ROCHOW W.F., PANG E. (1961): Aphid can acquire strains of barley yellow dwarf they do not transmit. *Virology* 15: 382-384.
- ROCHOW W.F., DUFFUS J.E. (1981): Luteoviruses and Yellows diseases. In: KURSTAK E. (Hrsg.): *Handbook of plant virus infections and comparative diagnosis*. Elsevier/North-Holland, Amsterdam, pp. 147-170.
- ROOS J., HOPKINS R., KVARNHEDEN A., DIXELIUS C. (2011): The impact of global warming on plant diseases and insect vectors in Sweden. *European Journal of Plant Pathology* 129: 9-19.
- RUGE B., LINZ A., PROESELER G, PICKERING R., GREIF P., WEHLING P. (2003): Mapping of Rym14Hb, a gene introgressed from *Hordeum bulbosum* and conferring

- resistance to BaMMV and BaYMV in barley. *Theoretical and Applied Genetics* 107: 965-971.
- RUGE-WEHLING B., LINZ A., HABEKUß A., WEHLING P. (2006): Mapping of Rym16 Hb, the second soil-borne virus-resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum*. *Theoretical and Applied Genetics* 113: 867-873.
- SAEKI K., MIYAZAKI C., HIROTA N., SAITO A., ITO K. (1999): RFLP mapping of BaYMV resistance gene *rym3* in barley (*Hordeum vulgare*). *Theoretical and Applied Genetics* 99: 727-732.
- SAGHAI MAROOF M.A., JEONG S.C., GUNDUZ I., TUCKER D.M., BUSS G.R., TOLIN S.A. (2008): Pyramiding of Soybean Mosaic Virus Resistance Genes by Marker-Assisted Selection. *Crop Science* 48: 517-526.
- SAIKI R.K., GELFAND D.H., STOFFEL S., SCHARF S.J., HIGUCHI R., HORN G.T., MULLIS K.B., ERLICH H.A. (1988): Primer-Directed Enzymatic Amplification of DNA with a Thermostable DNA-Polymerase. *Science* 239(4839): 487-491.
- SAIKI R.K., SCHARF S., FALOONA F., MULLIS K.B., HORN G.T., ERLICH H.A., ARNHEIM N. (1985): Enzymatic Amplification of Beta-Globin Genomic Sequences and Restriction Site Analysis for Diagnosis of Sickle-Cell Anemia. *Science* 230(4732): 1350-1354.
- SANG T. (2009): Genes and Mutations Underlying Domestication Transitions in Grasses. *Plant Physiology* 149: 63-70.
- SATO K., NANKAKU N., TAKEDA K. (2009): A high-density transcript linkage map of barley derived from a single population. *Heredity* 103: 110-117.
- SATO K., TAKEDA K. (2009): An application of high-throughput SNP genotyping for barley genome mapping and characterization of recombinant chromosome substitution lines. *Theoretical and Applied Genetics* 119: 613-619.
- SAYED H., KUMARI S., BAUM M., GHULAM W., GRANDO S., MAKKOUK K. (2006): Marker-assisted selection for *Barley yellow dwarf virus* resistance genes *Yd2* and *Yd3* in barley. In: Ninth Arab congress of plant protection, 19–23 November 2006, Damascus, Syria. E-103
- SCHALLER C.W. (1984): The Genetics of Resistance to Barely Yellow Dwarf Virus in Barley. In: BURNETT P.A. (Hrsg.): *Barley yellow dwarf*. Proceeding of a workshop. CIMMYT, Mexiko DF, p. 93.
- SCHALLER C.W., CHIM C.I. (1969a): Registration of Atlas 68 barley. *Crop Science* 9: 521.
- SCHALLER C.W., CHIM C.I. (1969b): Registration of CM 67 barley. *Crop Science* 9: 521.

- SCHALLER C.W., PRATO J.D., CHIM C.I. (1973): Registration of Sutter barley. *Crop Science* 13: 285.
- SCHALLER C.W., QUALSET C.O., RUTGER J.N. (1964): Inheritance and Linkage of the Yd2 Gene Conditioning Resistance to the Barley Yellow Dwarf Disease in Barley. *Crop Science* 4: 544-548.
- SCHOURER K. S. (2001): Genetische Analyse der Vererbung von Toleranz der Gerste (*Hordeum vulgare* L.) gegenüber Barley Yellow Dwarf Virus (BYDV). Dissertation, Justus-Liebig-Universität Gießen.
- SCHOURER K.S., FRIEDT W., HUTH W., WAUGH R., ORDON F. (2001): QTL analysis of tolerance to a German strain of BYDV-PAV in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 103: 1074-1083.
- SCHOURER K.S., HUTH W., FRIEDT W., ORDON F. (2000): First results on BYDV-tolerance in barely estimated in pot experiments. *Journal of Plant Disease Protection* 107: 427-432.
- SCHOLZ M., RUGE-WEHLING B., HABEKUSS A., SCHRADER O., PENDINEN G., FISCHER K., WEHLING P. (2009): *Ryd4<sup>Hb</sup>*: a novel resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus. *Theoretical and Applied Genetics* 119(5): 837-849.
- SCHUBERT J., HABEKUSS A., RABENSTEIN F. (2002): Investigations of differences between wheat and barley forms of *Wheat dwarf virus* and their distribution in host plants. *Plant Protection Science* 38: 43-48.
- SCHUBERT J., HABEKUSS A., KAZMAIER K., JESKE H. (2007): Surveying cereal-infecting geminiviruses in Germany - Diagnostics and direct sequencing using rolling circle amplification. *Virus Research* 127(1): 61-70.
- SHI A., CHEN P., LI D., ZHENG C., ZHANG B., LLOU A. (2008): Pyramiding multiple genes for resistance to soybean mosaic virus in soybean using molecular markers. *Molecular Breeding* 23(1): 113-124.
- SHIMIZU T., YOSHII M., WEI T.Y., HIROCHIKA H., OMURA T. (2009): Silencing by RNAi of the gene for Pns12, a viroplasm matrix protein of *Rice dwarf virus*, results in strong resistance of transgenic rice plants to the virus. *Plant Biotechnology Journal* 7(1): 24-32.
- SIGNORET P., MAROQUIN C. (1990): The barley yellow dwarf virus situation in Western Europe. In: BURNETT P.A. (Hrsg.): *World perspectives on barley yellow dwarf*. CIMMYT, Mexiko D.F., Mexiko, pp. 42-44.

- SINGH R.P. (1993): Genetic Association of Gene *Bdv1* for Tolerance to Barley Yellow Dwarf Virus with Genes *Lr34* and *Yr18* for Adult-Plant Resistance to Rusts in Bread Wheat. *Plant Disease* 77(11): 1103-1106.
- SINGH S., SIDHU J.S., HUANG N., VIKAL Y., LI Z., BRAR D.S., DHALIWAL H.S., KUSH G.S. (2001): Pyramiding three bacterial blight resistance genes (*xa5*, *xa13* and *Xa21*) using marker-assisted selection into indica rice cultivar PR 106. *Theoretical and Applied Genetics* 102: 1011-1015.
- SIP V., SIRLOVA L., CHRPOVA J. (2006): Screening for *Barley yellow dwarf virus*-Resistant Barley Genotypes by Assessment of Virus Content in Inoculated Seedlings. *Journal of Phytopathology* 154(6): 336-342.
- SKARIA M., LISTER R.M., FOSTER J.E., SHANER G. (1985): Virus Content as an Index of Symptomatic Resistance to Barley Yellow Dwarf Virus in Cereals. *Phytopathology* 75(2): 212-216.
- SMITH H.C. (1957): Cereal yellow dwarf virus seen in Australia. *Commonwealth Phytopathology News* (3): 10-11.
- SMITH H.C. (1955): Notes on new disease in New Zealand. *Commonwealth Phytopathology News* (1): 10-11.
- STARLING T.M., ROANE C.W., CAMPER H.M. (1987): Registration of Wysor Barley. *Crop Science* 27(6): 1306-1307.
- STARLING T.M., GRIFFEY C.A., PRICE A.M., ROANE C.W., SISSON W.L., BRANN D.E. (1994): Registration of Nomini barley. *Crop Science* 34: 300.
- STEIN N., HERREN G., KELLER B. (2001): A new DNA extraction method for high-throughput marker analysis in a large-genome species such as *Triticum aestivum*. *Plant Breeding* 120(4): 354-356.
- STEIN N., PRASAD M., SCHOLZ U., THIEL T., ZHANG H.N., WOLF M., KOTA R., VARSHNEY R.K., PEROVIC D., GROSSE I., GRANER A. (2007): A 1,000-loci transcript map of the barley genome: new anchoring points for integrative grass genomics. *Theoretical and Applied Genetics* 114(5): 823-839.
- SUNESON C.A. (1955): Breeding for resistance to yellow dwarf virus in barley. *Agronomy Journal* 47: 283.
- TAKKEN F.L.W., JOOSTEN M.H.A.J. (2000): Plant resistance genes: their structure, function and evolution. *European Journal of Plant Pathology* 106: 699-713.
- TAUTZ D., RENZ M. (1984): Simple sequences are ubiquitous repetitive components of eukaryotic genomes. *Nucleic Acids Research* 12(10): 4127-4138.

- THIEL T., GRANER A., WAUGH R., GROSSE I., CLOSE T.J., STEIN N. (2009): Evidence and evolutionary analysis of ancient whole-genome duplication in barley predating the divergence from rice. *BMC Evolutionary Biology* 9: 209. <http://www.biomedcentral.com/1471-2148/9/209>.
- THIEL T., MICHALEK W., VARSHNEY R.K., GRANER A. (2009): Exploiting EST databases for the development and characterization of gene-derived SSR-markers in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 106(3): 411-422.
- TOOJINDA T., BROERS L.H., CHEN X.M., HAYES P.M., KLEINHOF A., KORTE J., KUDRNA D., LEUNG H., LINE R.F., POWELL W., RAMSAY L., VIVAR H., WAUGH R. (2000): Mapping quantitative and qualitative disease resistance genes in a doubled haploid population of barley (*Hordeum vulgare*). *Theoretical and Applied Genetics* 101(4): 580-589.
- VACKE J. (1961): Wheat Dwarf Virus Disease. *Biologia Plantarum* 3(3): 228-232.
- VACKE J., CIBULKA R. (2000): Response of Selected Winter Wheat Varieties to Wheat Dwarf Virus Infection at an Early Growth Stage. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 36(1): 1-4.
- VACKE J., CIBULKA R. (2001): Reactions of Registered Winter Barley Varieties to *Wheat dwarf virus* Infection. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 37(2): 50-52.
- VACKE J. (1972): Host plants range and symptoms of wheat dwarf virus. *Výzkumných Ústavů Rostlinné Výroby Praha-Ruzyně* 17: 151-62.
- VARRELMANN M. (2006): Virusresistente transgene Pflanzen - Mechanismen und Nutzung. *Schriftreihe der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft e.V.* Band.8: 46-68.
- VARSHNEY R.K., MARCEL T.C., RAMSAY L., RUSSELL J., RODER M.S., STEIN N., WAUGH R., LANGRIDGE P., NIKS R.E., GRANER A. (2007): A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. *Theoretical and Applied Genetics* 114(6): 1091-1103.
- VERTIGAN W.A. (1991) Register of Australian winter cereal cultivars *Hordeum vulgare* (Barley) cv. Franklin. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 31: 863.
- VOS P., HOGERS R., BLEEKER M., REIJANS M., VANDELEE T., HORNES M., FRIJTERS A., POT J., PELEMAN J., KUIPER M., ZABEAU M. (1995): AFLP - A New Technique for DNA-Fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23(21): 4407-4414.



- WANG M.B., ABBOTT D.C., WATERHOUSE P.M. (2000): A single copy of a virus-derived transgene encoding hairpin RNA gives immunity to barley yellow dwarf virus. *Molecular Plant Pathology* 1(6): 347-356.
- WANG M.B., CHENG Z., KEESE P., GRAHAM M.W., LARKIN P.J., WATERHOUSE P.M. (1998): Comparison of the coat protein, movement protein and RNA polymerase gene sequences of Australian, Chinese, and American isolates of barley yellow dwarf virus transmitted by *Rhopalosiphum padi*. *Archives of Virology* 143(5): 1005-1013.
- WATSON M.A., MULLIGAN T. (1957): Cereal Yellow Dwarf Virus in Great Britain. *Plant Pathology* 6(1): 12-14.
- WATERHOUSE P.M., SMITH N.A., WANG M.B. (1999): Virus resistance and gene silencing: killing the messenger. *Trends in Plant Science* 4(11): 452-457.
- WEBER I., MEYER U., HAASE A., KEGLER H. (1990): Untersuchungen zum Einfluß von Pflanzenalter und erblicher Resistenz auf die Viruskonzentration als Merkmal quantitaiver Resistenz am Modell Gurke – Gurkenmosai-Virus (cucumber mosaic virus). *Archiv für Phytopathologie und Pflanzenschutz* 26(3): 225-235.
- WENZL P., CARLING P., KUDRNA D., JACCOUD D., HUTTNER E., KLEINHOF A., KILIAN, A. (2004): Diversity Arrays Technology (DArT) for whole-genome profiling of barley. *PNAS* 26: 9915-9920.
- WERNER K., FRIEDT W., LAUBACH E., WAUGH R., ORDON F. (2003): Dissection of resistance to soil-borne yellow-mosaic-inducing viruses of barley (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2) in a complex breeders cross by means of SSRs and simultaneous mapping of BaYMV/BaYMV-2 resistance of var. 'Chikurin Ibaraki 1'. *Theoretical and Applied Genetics* 106: 1425-1432.
- WERNER K., FRIEDT W., ORDON F. (2005): Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). *Molecular Breeding* 16(1): 45-55.
- WOOLSTON C.J., BARKER R., GUNN H., BOULTON M.I., MULLINEAUX P.M. (1988): Agroinfection and nucleotide-sequence of cloned wheat dwarf virus-DNA. *Plant Molecular Biology* 11: 35-43.
- XIE T., WANG X., LIU Y., PENG Y., ZHOU G. (2007): First Report of the Occurrence of *Wheat dwarf virus* in Wheat in China. *Plant Disease* 91(1): 111.
- XIN Z.Y., XU H.J., CHEN X., LIN Z.S., ZHOU G.H., QIAN Y.T., CHENG Z.M., LARKIN P.J., BANKS P., APPELS R., GLARKE B., BRETTELL R.I.S. (1991): Development of Common Wheat Germ-Plasm Resistant to Barley Yellow Dwarf Virus by

- Biotechnology. Science in China Series B-Chemistry Life Sciences & Earth Sciences 34(9): 1055-1062.
- YAN F., ZHENG Y.Y., ZHANG W.W., XIAO H., LI S.F., CHENG Z.M. (2006): Obtained transgenic wheat expressing *pac1* mediated by *Agrobacterium* is resistant against *Barley yellow dwarf virus-GPV*. Chinese Science Bulletin 51(19): 2362-2368.
- YOON J.Y., CHOI S.K., PALUKAITIS P., GRAY S.M. (2011): *Agrobacterium*-mediated infection of whole plants by yellow dwarf viruses. Virus Research 160: 428-434.
- ZHU S., KOLB F.L., KAEPLER H.F. (2003): Molecular mapping of genomic regions underlying barley yellow dwarf tolerance in cultivated oat (*Avena sativa* L.). Theoretical and Applied Genetics 106(7): 1300-1306.

## 8 Anhang

### 8.1 *Anhang zu Material und Methoden*

#### 8.1.1 Pflanzenschutzmaßnahmen in den Feldversuchen

An den Standorten Bernburg (BBG), Gudow, Irlbach und Quedlinburg (QLB) wurden die Pflanzenschutzmaßnahmen nach dem Ermessen der Versuchsansteller vor Ort durchgeführt.

Tabelle A 1: Zusammenfassung der in den Feldversuchen durchgeführten Pflanzenschutzmaßnahmen

BYDV-Phänotypisierung Wintergersten DH-Linien `RIL K4-56` x `DH21-136` im Jahr 2008				
Datum	Standort	Wirkungsbereich/Zweck	Mittel	Aufwandmenge
16.10.07	QLB	Herbizid	Fenikan	2,5 l/ha
17.10.07	QLB	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
29.02.08	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
		Fungizid	Corbel	0,5 l/ha
05.11.07	BBG	Herbizid	Fenikan	2,5 l/ha
		Insektizid	Sumicidin	0,2 l/ha
06.05.08	BBG	Fungizid	Opus Top	1,5 l/ha
21.05.08	BBG	Insektizid	Sumicidin	0,2 l/ha
16.10.07	Gudow	Herbizid	Fenican	2,5 l/ha
02.11.07	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
28.04.08	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
BYDV-Phänotypisierung Wintergersten DH-Linien `RIL K4-56` x `DH21-136` im Jahr 2009				
Datum	Standort	Wirkungsbereich/Zweck	Mittel	Aufwandmenge
08.10.08	QLB	Insektizid (Erdräupen)	KarateZeon	0,75 l/ha (getränkte Kartoffelscheiben)
14.10.08	QLB	Herbizid	Fenikan	2,5 l/ha
21.10.08	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
04.03.09	QLB	Fungizid	Vegas	0,5 l/ha
18.10.08	BBG	Insektizid	Sumicidin	0,2 l/ha
10.11.08	BBG	Herbizid	Fenikan	2,5 l/ha
27.04.09	BBG	Fungizid	Input	1,25 l/ha
13.05.09	BBG	Insektizid	Sumicidin	1,5 l/ha
		Fungizid	Fandango	0,2 l/ha
18.06.09	BBG	Insektizid	Sumicidin	0,2 l/ha
10.10.08	Gudow	Herbizid	Fenican	2,5 l/ha
28.04.09	Gudow	Insektizid	Karate Zoom	0,75 l/ha
16.06.09	Gudow	Insektizid	Karate Zoom	0,75 l/ha
14.10.08	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
23.04.09	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
19.05.09	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
BYDV-Phänotypisierung Sommergersten DH-Linien `RIL K4-56` x `Coracle` im Jahr 2008				
Datum	Standort	Wirkungsbereich/Zweck	Mittel	Aufwandmenge
29.04.08	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
		Fungizid	Vegas	0,5 l/ha

10.06.08	QLB	Insektizid	Pirimor	lokale Anwendung
18.06.08	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
		Fungizid	Vegas	0,5 l/ha
06.05.08	BBG	Fungizid	Opus Top	1,5 l/ha
07.05.08	BBG	Herbizid	Tristar	1,5 l/ha
21.05.08	BBG	Insektizid	Sumicidin	0,2 l/ha
15.05.08	Gudow	Herbizid	Pointer	30 g/ha
28.04.08	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
06.06.08	Irlbach	Herbizid, Insektizid	MCPA Trafo WG	1,5 l/ha 150 g/ha
BYDV-Phänotypisierung Sommergersten DH-Linien `RIL K4-56` x `Coracle` im Jahr 2009				
Datum	Standort	Wirkungsbereich/Zweck	Mittel	Aufwandmenge
12.05.09	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
		Fungizid	Corbel	0,5 l/ha
19.05.09	QLB	Herbizid	Fenikan	3,0 l/ha
16.06.09	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
25.06.09	QLB	Insektizid	Confidor	165 g/ha
30.04.09	BBG	Herbizid	Foxtril Super	2,0 l/ha
13.05.09	BBG	Insektizid	Sumicidin	1,5 l/ha
		Fungizid	Fandango	0,2 l/ha
18.06.09	BBG	Insektizid	Sumicidin	0,2 l/ha
22.04.09	Gudow	Herbizid	U 46	2,0 l/ha
28.04.09	Gudow	Insektizid	Karate Zoom	0,75 l/ha
16.06.09	Gudow	Insektizid	Karate Zoom	0,75 l/ha
08.05.09	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
26.05.09	Irlbach	Insektizid	Karate Zeon	0,75 l/ha
WDV-Phänotypisierung DH-Linien `Post` x `Vixen` I im Jahr 2007 am Standort Quedlinburg				
Datum	Zweck	Mittel	Aufwandmenge	
Okt. 06	Herbizid	Fenikan	2,5 l/ha	
Okt. 06	Fungizid	Corbel	0,5 l/ha	
Okt. 06	Insektizid	Confidor	165 g/ha	
März 06	Insektizid, Fungizid	Confidor Corbel	165 g/ha 0,5 l/ha	
WDV-Phänotypisierung DH-Linien `Post` x `Vixen` I im Jahr 2008 am Standort Quedlinburg				
Datum	Zweck	Mittel	Aufwandmenge	
08.10.07	Insektizid, gegen Erdraupen	Karate Zeon	0,75 l/ha (getränkte Kartoffelscheiben)	
22.11.07	Insektizid (Zikaden)	Dantop	150 g/ha	
Feb. 08	Herbizid, Fungizid	Fenikan Corbel	2,5 l/ha 0,5 l/ha	
28.03.08	Insektizid, Fungizid	Confidor Corbel	165 g/ha 0,5 l/ha	
WDV-Phänotypisierung DH-Linien `Post` x `Vixen` I + II im Jahr 2009 am Standort Quedlinburg				
Datum	Zweck	Mittel	Aufwandmenge	
14.10.08	Herbizid	Fenikan	3,0 l/ha	
17.10.08	Fungizid	Corbel	0,5 l/ha	
21.10.08	Insektizid	Confidor	165 g/ha	
04.03.09	Fungizid	Corbel	0,5 l/ha	

## 8.1.2 Markerdaten und PCR-Protokolle

Tabelle A 2: Molekulare Marker, die in der DH-Population 'Post' x 'Vixen' II analysiert wurden, mit Angabe der verwendeten PCR-Reaktionsgemische und Thermocycler-Programme

Marker- Bezeichnung	Chromo- som	Typ	Mar- kierung	PCR- Ansatz	PCR- Programm	Restrik- tions- enzym	mono-/ poly- morph	kartiert
Bmac030	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac032	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac040	6H	SSR	direkt	Standard	wms55	-	p	ja
Bmac047	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac067	4H	SSR	direkt	Standard	wms55	-	p	ja
Bmac090	1H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	p	ja
Bmac096	5H	SSR	direkt	Standard	wms58	-	p	ja
Bmac129	3H	SSR	direkt	Standard	wms58	-	p	ja
Bmac134	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac156	7H	SSR	C-M13	M13	wms55	-	p	ja
Bmac163	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac181	4H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	m	nein
Bmac186	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmac209	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac218	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmac251	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmac273	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmac282	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmac299	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmac310	4H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	p	ja
Bmac602	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag005	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag006	3H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	p	ja
Bmag009	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmag013	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag021	7H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	m	nein
Bmag120	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag211	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag225	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag306	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag321	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag337	5H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	p	ja
Bmag344	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmag345	1H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	p	ja
Bmag347	1H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	p	ja
Bmag357	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag384	4H, 7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmag394	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmag490	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmag496	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag579	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
Bmag749	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja

Marker- Bezeichnung	Chromo- som	Typ	Mar- kierung	PCR- Ansatz	PCR- Programm	Restrik- tions- enzym	mono-/ poly- morph	kartiert
Bmag770	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
Bmag807	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
Bmag900	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
EBmac415	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
EBmac501	1H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	p	ja
EBmac540	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
EBmac541	3H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	m	nein
EBmac602	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
EBmac623	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
EBmac656	1H	SSR	direkt	Standard	Sat-F	-	m	nein
EBmac658	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
EBmac701	4H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	m	nein
EBmac788	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
EBmac970	5H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	m	nein
Ebmag705	3H	SSR	direkt	Standard	Sat-E	-	p	ja
Ebmag781	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1003	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1004	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1006	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1007	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1008	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1010	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1013	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1015	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1020	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1023	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1026	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1029	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1030	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1031	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1032	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1033	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1035	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1036	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1037	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1043	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1045	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1047	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1054	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1055	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1060	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1062	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1063	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1064	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1067	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1069	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein

Marker- Bezeichnung	Chromo- som	Typ	Mar- kierung	PCR- Ansatz	PCR- Programm	Restrik- tions- enzym	mono-/ poly- morph	kartiert
GBM1070	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1072	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1075	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1078	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1087	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1140	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1174	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1176	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1181	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1200	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1204	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1208	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1214	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1218	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1220	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1221	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1226	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1227	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1229	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1231	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1237	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1251	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1256	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1278	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1280	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1281	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1288	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1295	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1297	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1299	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1300	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1309	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1336	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1371	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1396	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1399	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1400	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1404	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1405	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1421	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1423	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1427	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1437	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1438	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1440	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1448	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein

Marker- Bezeichnung	Chromo- som	Typ	Mar- kierung	PCR- Ansatz	PCR- Programm	Restrik- tions- enzym	mono-/ poly- morph	kartiert
GBM1450	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1451	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM1453	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1462	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1464	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1465	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1469	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1472	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1475	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1494	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM1498	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1501	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM1509	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GBM5012	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM5060	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBM5225	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBM5230	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBMS013	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBMS143	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBMS160	2H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS31	2H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS32	5H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS35	7H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS38	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GBMS53	1H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS62	1H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS74	3H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBMS85	3H	SSR	direkt	Standard	TD62-56	-	p	ja
GBR534	1H	SNP	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja
GBS060	1H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Avall</i>	m	nein
GBS154	7H	SNP	C-M13	M13	TD62-56	<i>Hhal</i>	p	ja
GBS157	6H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Sall</i>	m	nein
GBS164	6H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Hpy188I</i>	m	nein
GBS288	4H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Hhal</i>	m	nein
GBS361	1H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Hhal</i>	m	nein
GBS369	6H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>HaeIII</i>	m	nein
GBS468	6H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>HaeIII</i>	m	nein
GBS528	1H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>HpyCH4IV</i>	m	nein
GBS546	1H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Hhal</i>	m	nein
GBS582	1H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>SsIII</i>	m	nein
GBS589	4H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>Hhal</i>	p	nein
GBS667	3H	CAPS	C-M13	M13	TD62-56	<i>BstNI</i>	m	nein
GMS01	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GMS02	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein
GMS06	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein
GMS21	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein



Marker- Bezeichnung	Chromo- som	Typ	Mar- kierung	PCR- Ansatz	PCR- Programm	Restrik- tions- enzym	mono-/ poly- morph	kartiert	
GMS27	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
Gms61	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVBKASI	2H	SSR	direkt	Standard	micro4	-	p	ja	
HVCMA	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja	
HVCSG	2H	SSR	C-M13	M13	TD66-60	-	p	ja	
HveIF4E	3H	SSR	-	Standard	TD64-59	-	p	ja	
HvHVA1	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVLEU	5H	SSR	direkt	Standard	TD64-55 1min	-	p	nein	
HvLOX	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVM03	4H	SSR	direkt	Standard	wms55	-	p	ja	
HVM13	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVM14	6H	SSR	direkt	Standard	TD64-55 1min	-	p	ja	
HVM20	1H	SSR	direkt	Standard	Sat-A	-	p	ja	
HVM33	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja	
HVM36	2H	SSR	direkt	Standard	Sat-A	-	p	ja	
HVM40	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja	
HVM44	3H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVM49	7H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVM54	2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	nein	
HVM60	3H	SSR	direkt	Standard	Sat-A	-	p	ja	
HVM63	1H, 2H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVM67	4H	SSR	C-M13	M13	WMS58, hotfire	-	p	nein	
HVM68	4H	SSR	direkt	Standard	TD64-55 1min	-	p	ja	
HVM74	6H	SSR	direkt	siehe Tab.3-12	siehe Tab. 3-13	-	m	nein	
HVM77	4H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
HVTUB	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
OP-W20	2H	RAPD	siehe Ordon et al. 1995				p	ja	
scssr0103	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
scssr2306	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
scssr4163	1H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja	
scssr5599	6H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	p	ja	
scssr5939	5H	SSR	C-M13	M13	TD62-56	-	m	nein	
V	2H	Merkmal: Zeiligkeit						p	ja
Wms6	4H	SSR	C-M13	M13	wms55	-	p	ja	
YlpPCRm	3H	CAPS	-	YLP	YLP	Hsp92II	p	ja	

Tabelle A 3: Thermocycler-Programme und Zusammensetzung der Reaktionsgemische für die PCR

TD62-56			Sat-E		
Temperatur	Dauer	Zyklen	Temperatur	Dauer	Zyklen
94 °C	5 min	1	94 °C	3 min	1
94 °C	30 s	12; -0,5°C/Zyklus	55 °C	1 min	1
62 bis 56 °C	30 s		72 °C	1 min	1

72 °C	30 s	
94 °C	30 s	
56 °C	30 s	35
72 °C	30 s	
72 °C	7 min	1

**TD64-58**

Temperatur	Dauer	Zyklen
94 °C	5 min	1
94 °C	30 s	
64 bis 58 °C	30 s	12; -0,5 °C/Zyklus
72 °C	30 s	
94 °C	30 s	
56 °C	30 s	35
72 °C	30 s	
72 °C	7 min	1

**TD64-55 1min**

Temperatur	Dauer	Zyklen
94°C	5 min	1
94°C	30 s	
64 bis 55 °C	1 min	18; -0,5 °C/Zyklus
72°C	1 min	
94°C	30 s	
56°C	1 min	35
72°C	1 min	
72°C	7 min	1

**wms55 bzw. wms58**

Temperatur	Dauer	Zyklen
96 °C	10 min	1
94 °C	1 min	
55 bzw. 58 °C	2 min	45
72 °C	90 s	
72 °C	7 min	1

**micro4**

Temperatur	Dauer	Zyklen
94 °C	5 min	1
92 °C	1 min	
60 °C	1 min	42
72 °C	1 min	
72 °C	10 min	1

**Sat-A**

Temperatur	Dauer	Zyklen
94 °C	3 min	1
94 °C	1 min	
64 bis 55 °C	1 min	10; -1° C/Zyklus
72 °C	1 min	
94 °C	30 s	
55 °C	1 min	30
72 °C	1 min	
72 °C	5 min	1

92 °C	1 min	
55 °C	1 min	30
72 °C	1 min	
72 °C	5 min	1

**Sat-F**

Temperatur	Dauer	Zyklen
94 °C	3 min	1
58 °C	1 min	1
72 °C	1 min	1
92 °C	30 s	
58 °C	30 s	30
72 °C	30 s	
72 °C	5 min	1

**M13**

Reagenz	Konzentration	Verwendete Menge
H2O td		6,12 µl
Polymerase-Puffer	10 x	1,00 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1,00 µl
dNTPs	10 mM	0,20 µl
Primer F	1 pmol/µl	0,25 µl
Primer R	10 pmol/µl	0,25 µl
10 pmol/µl	0,10 µl	
DNA Polymerase (FIREPol)	5 U/µl	0,08 µl
DNA	25 ng/µl	1,00 µl

M13-Tail-Cy5/D2/D3<sup>1</sup>**Standard**

Reagenz	Konzentration	Verwendete Menge
H2O td		6,22 µl
Polymerase-Puffer	10 x	1,00 µl
MgCl <sub>2</sub>	25 mM	1,00 µl
dNTPs	10 mM	0,20 µl
Primer F	10 pmol/µl	0,25 µl
Primer R	10 pmol/µl	0,25 µl
DNA Polymerase <sup>2</sup> (FIREPol)	5 U/µl	0,08 µl
DNA	25 ng/µl	1,00 µl

<sup>1</sup> Sequenz M13-Tail:  
CACGACGTTGTAAAACGAC<sup>2</sup> bei wms55, wms58 Hotfire Polymerase

In allen PCR-Programmen folgt:

4 °C	20 min
15 °C	∞

### 8.1.3 Verfahren der Gel-Elektrophorese

Alle PCR-Produkte wurden zumindest stichprobenartig auf einem Agarosegel überprüft. Die Auswertung bei Fragmentgrößenunterschieden größer gleich 10 bp erfolgte in der Regel in der horizontalen Gel-Elektrophorese-Kammer in einem 1 bis 2 %igen Agarosegel mit dem TBE Laufpuffer (10x) bei 3 bis 5 V/cm. Durch eine Beimengung von niedrigprozentiger Ethidiumbromidlösung in das Agarosegel werden die Bandenmuster unter UV-Licht im Transilluminator (Bio-Rad Laboratories GmbH, München) sichtbar und können mit Hilfe von integrierter Kameratechnik im Bild festgehalten und ausgewertet werden.

Für kleinere Fragmentgrößenunterschiede wurde die Kapillarelektrophorese (Beckman Coulter CEQ 8000) genutzt, für die das PCR-Fragment allerdings mit einer Cy5-, D3- oder D2-Markierung ausgestattet sein muss. Dies wird entweder durch eine direkte Markierung des Forward-Primers erreicht oder bei Forward-Primern mit einem speziellen M13-Tail (19 zusätzliche Basenpaare) kann ein beliebig markierter Tail (Komplementärsequenz) der PCR zugegeben werden, der dann während der PCR eingebaut wird. In der Kapillarelektrophorese wird je nach Signalstärke 0,1 bis 1 µl PCR-Produkt zusammen mit einem gerätespezifischen Standard (0,3 µl; 400 bp) in Formamid (30 µl) analysiert. Als Ergebnis dieser Analysen wird dem Signal der Probe mit Hilfe des Standards eine Fragmentgröße zugeordnet und graphisch dargestellt. So können Unterschiede ab 1 bp sichtbar gemacht werden.

## 8.2 Anhang zu Ergebnissen

### 8.2.1 Sommergersten DH-Population `RIL K4-56` x `Coracle`

Tabelle A 4: Leistungen der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in der nicht infizierten Variante in Abhängigkeit von der Allelkombination im Mittel an 4 Standorten in 2 Jahren

Allelkombination/ Merkmal	<i>Ryd3</i> <i>Ryd2</i>	<i>ryd3</i> <i>Ryd2</i>	<i>Ryd3</i> <i>ryd2</i>	<i>ryd3</i> <i>ryd2</i>
Kornertrag/Pflanze [g]	10,2	10,6	10,0	9,7
Ähren/Pflanze	12,9	13,0	12,8	12,7
TKG [g]	55,2	56,0	53,9	54,0
Kornzahl/Ähre	15,8	16,5	15,7	15,5
Wuchshöhe [cm]	80,8	81,4	76,3	76,8
Datum Ährenschieben 75%	08.Juni	09.Juni	08.Juni	06.Juni

Tabelle A 5: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' in Abhängigkeit von der Allelkombination an den verschiedenen Versuchsstandorten in den Versuchsjahren 2008 und 2009; unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb des Versuchsstandortes

Standort	Quedlinburg				Bernburg			
	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>
Allelkombination	<i>Ryd2</i>	<i>Ryd2</i>	<i>ryd2</i>	<i>ryd2</i>	<i>Ryd2</i>	<i>Ryd2</i>	<i>ryd2</i>	<i>ryd2</i>
Kornertrag/Pflanze [%]	127,5 a	94,2 c	111,8 b	9,0 d	108,8 a	81,7 c	90,7 b	17,5 d
Ähren/Pflanze [%]	128,4 a	101,3 c	118,4 b	18,8 d	111,3 a	86,3 b	94,6 b	25,5 c
TKG [%]	101,0 a	96,5 c	98,9 b	75,7 d	97,4 a	94,4 a	94,6 a	77,7 b
Kornzahl/Ähre [%]	100,3 a	97,4 a	97,2 a	59,8 b	102,9 a	98,9 a	102,6 a	88,4 b
Wuchshöhe [%]	98,9 a	94,2 b	97,8 a	59,9 c	102,5 a	99,2 b	99,8 ab	75,0 c
Boniturnote	2,3 a	3,1 b	2,9 b	6,6 c	2,5 a	3,7 b	3,5 b	6,2 c
Differenz im Ährenschieben [d]	2,3 c	3,6 b	3,8 b	10,4 a	0,6 c	2,4 b	3,1 b	6,0 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,62 d	1,29 a	1,16 b	0,77 c	0,45 b	1,03 a	0,99 a	0,99 a
Standort	Gudow				Irlbach			
Kornertrag/Pflanze [%]	101,3 a	86,8 b	97,4 a	19,8 c	117,7 a	92,3 c	102,6 b	38,9 d
Ähren/Pflanze [%]	102,6 a	90,0 b	94,8 b	29,5 c	-	-	-	-
TKG [%]	99,3 a	96,9 b	97,1 b	75,7 c	98,6 a	94,5 a	98,0 a	50,2 b
Kornzahl/Ähre [%]	100,0 b	100,3 b	106,5 a	89,8 c	-	-	-	-
Wuchshöhe [%]	98,6 a	96,2 b	97,7 ab	75,8 c	105,2 a	100,4 a	106,3 a	74,8 b
Boniturnote	2,8 a	3,6 b	3,4 b	5,6 c	2,1 a	3,2 b	3,0 b	5,8 c
Differenz im Ährenschieben [d]	-	-	-	-	0,2 b	0,5 b	0,6 b	2,0 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,52 c	0,85 b	0,89 ab	0,95 a	0,56 c	1,20 a	1,12 ab	1,07 b

Tabelle A 6: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' in Abhängigkeit von der Allelkombination in den Versuchsjahren 2008 und 2009 (4 Standorte); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb der Jahre

Jahr	2008				2009			
	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>
Allelkombination	<i>Ryd2</i>	<i>Ryd2</i>	<i>ryd2</i>	<i>ryd2</i>	<i>Ryd2</i>	<i>Ryd2</i>	<i>ryd2</i>	<i>ryd2</i>
Kornertrag/Pflanze [%]	100,8 a	80,4 c	92,6 b	18,3 d	127,5 a	93,6 c	107,2 b	10,6 d
Ähren/Pflanze [%]	106,3 a	89,0 c	96,1 b	29,5 d	121,8 a	96,0 c	108,9 b	19,8 d
TKG [%]	98,0 a	95,2 b	97,7 a	79,7 c	100,2 a	95,9 b	96,7 b	60,9 c
Kornzahl/Ähre [%]	97,7 ab	93,4 b	99,7 a	75,4 c	104,3 a	104,3 a	104,6 a	83,2 b
Wuchshöhe [%]	96,4 a	94,5 a	95,9 a	66,5 b	102,5 a	97,9 b	101,4 a	72,0 c
Boniturnote	2,4 a	3,4 c	3,2 b	6,1 d	2,4 a	3,4 c	3,2 b	6,1 d
Differenz im Ährenschieben [d]	0,8 b	0,8 b	0,5 b	4,9 a	1,3 c	3,0 b	3,6 b	7,0 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,74 c	1,43 a	1,29 b	1,21 b	0,47 c	1,00 a	0,96 a	0,84 b

Die folgenden Tabellen A7 bis A13 sind Auszüge aus der Ausgabedatei der Statistiksoftware SAS 9.1. In der Regel beruhen die Analysen wegen einzelner fehlender Werte auf einem unbalancierten Datensatz. Für die Varianzanalyse wurden die relativen Werte als Leistung der infizierten Variante / Leistung der nichtinfizierten Variante berechnet.

Tabelle A 7: Varianztabelle des relativen Korntrages/Pflanze bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	138,96	1530,78	<0,0001
Wiederholung	1	0,00	0,02	0,90
Standort	3	1,65	18,15	<0,0001
Jahr	1	6,33	69,75	<0,0001
Genotyp*Standort	9	1,49	16,39	<0,0001
Genotyp*Jahr	3	2,13	23,46	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	8	0,57	6,28	<0,0001

Tabelle A 8: Varianztabelle der relativen Ährenzahl/Pflanze bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	93,95	1095,81	<0,0001
Wiederholung	1	0,01	0,07	0,79
Standort	2	3,36	39,17	<0,0001
Jahr	1	1,76	20,56	<0,0001
Genotyp*Standort	6	1,59	18,49	<0,0001
Genotyp*Jahr	3	1,83	21,35	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	8	0,91	10,62	<0,0001

Tabelle A 9: Varianztabelle des relativen TKG bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	14,57	1116,85	<0,0001
Wiederholung	1	0,00	0,01	0,93
Standort	3	1,00	76,98	<0,0001
Jahr	1	1,69	129,85	<0,0001
Genotyp*Standort	9	0,84	64,22	<0,0001
Genotyp*Jahr	3	1,75	133,85	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	12	0,73	55,68	<0,0001

Tabelle A 10: Varianztabelle der relativen Kornzahl/Ähre bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	6,92	168,99	<0,0001
Wiederholung	1	0,02	0,43	0,51
Standort	2	2,99	72,96	<0,0001
Jahr	1	3,18	77,59	<0,0001
Genotyp*Standort	6	1,15	28,06	<0,0001
Genotyp*Jahr	3	0,09	2,19	0,09
Genotyp*Standort*Jahr	8	0,37	8,93	<0,0001

Tabelle A 11: Varianztabelle der relativen Wuchshöhe bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	12,44	1087,87	<0,0001
Wiederholung	1	0,38	33,13	<0,0001
Standort	3	0,85	74,03	<0,0001
Jahr	1	0,36	31,21	<0,0001
Genotyp*Standort	9	0,22	19,20	<0,0001
Genotyp*Jahr	3	0,02	1,54	0,20
Genotyp*Standort*Jahr	4	0,03	2,45	0,04

Tabelle A 12: Varianztabelle der Differenz im Ährenschieben bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	2362,60	123,03	<0,0001
Wiederholung	1	132,40	6,89	0,01
Standort	2	3598,57	187,39	<0,0001
Jahr	1	2257,41	117,55	<0,0001
Genotyp*Standort	6	408,51	21,27	<0,0001
Genotyp*Jahr	3	99,97	5,21	0,00
Genotyp*Standort*Jahr	4	511,61	26,64	<0,0001

Tabelle A 13: Varianztabelle der ELISA-Extinktion der infizierten Variante bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	3	72,76	485,57	<0,0001
Wiederholung	1	2,18	14,57	0,00
Standort	3	7,21	48,14	<0,0001
Jahr	1	93,34	622,93	<0,0001
Genotyp*Standort	3	0,96	6,39	0,00
Genotyp*Jahr	9	4,12	27,46	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	8	24,04	160,44	<0,0001

## 8.2.2 Wintergersten DH-Population `RIL K4-56´ x `DH21-136´

Tabelle A 14: Mittlere Leistungen der DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `DH21-136´ in der nichtinfizierten Variante in Abhängigkeit von der Allelkombination

Allelkombination/ Merkmal	<i>Ryd3</i> <i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd3</i> <i>Ryd2</i> QTL-	<i>ryd3</i> <i>Ryd2</i> QTL+	<i>ryd3</i> <i>Ryd2</i> QTL-	<i>Ryd3</i> <i>ryd2</i> QTL+	<i>Ryd3</i> <i>ryd2</i> QTL-	<i>ryd3</i> <i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd3</i> <i>ryd2</i> QTL-
Kornertrag/Pflanze [g]	22,34	18,83	23,23	21,33	20,27	16,89	20,06	26,08
Ähren/Pflanze	17,65	16,81	17,55	16,58	18,85	16,72	19,84	18,85
TKG [g]	40,26	45,97	40,66	39,52	38,31	39,56	43,61	44,08
Kornzahl/Ähre	37,43	30,49	40,73	40,06	34,64	31,05	28,79	37,36
Wuchshöhe [cm]	94,18	94,76	95,1	94,89	88,95	87,8	90,48	91,16
Datum								
Ährenschieben 75%	12.Mai	10.Mai	09.Mai	11.Mai	11.Mai	11.Mai	12.Mai	12.Mai
Auswinterung [%]	7,3%	13,5%	8,1%	6,1%	9,7%	11,0%	9,4%	10,0%

Tabelle A 15: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136' in Abhängigkeit von der Allelkombination an den vier Versuchsstandorten in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009; unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb des Versuchsstandortes

Allelkombination/ Merkmal	Quedlinburg							
	<i>Ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>ryd3</i>
	<i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd2</i> QTL-	<i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd2</i> QTL-	<i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd2</i> QTL-	<i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd2</i> QTL-
Kornertrag/Pflanze [%]	114,9 a	116,7 a	95,8 a	102,3 a	103,8 a	109,0 a	32,6 b	19,2 b
Ähren/Pflanze [%]	116,7 a	114,0 a	105,5 a	110,0 a	108,5 a	112,7 a	50,7 b	35,8 b
TKG [%]	95,6 a	97,2 a	94,1 a	96,4 a	96,6 a	96,9 a	79,9 b	76,3 b
Kornzahl/Ähre [%]	101,4 a	103,6 a	96,5 a	96,2 a	99,2 a	99,3 a	72,0 b	51,0 c
Wuchshöhe [%]	97,1 a	97,4 a	97,3 a	96,5 a	95,1 a	96,7 a	78,0 b	65,5 c
Boniturnote	2,0 a	2,0 a	2,5ab	3,0 b	2,7 b	2,5 b	4,8 c	6,3 d
Differenz im Ährenschieben [d]	0,2 c	0,6 bc	0,8 bc	1,6 b	0,7 bc	0,6 bc	3,6 a	4,8 a
Auswinterung [%]	94,7ab	103,3ab	106,4 a	100,7ab	101,4ab	96,1ab	89,0 b	96,0ab
ELISA-Extinktion (405nm)	0,11 e	0,17 e	0,72 c	0,91 b	0,53 d	0,74 c	1,17 a	1,05 a
	Bernburg							
Kornertrag/Pflanze [%]	110,4 a	103,4ab	92,1 b	90,2 b	102,4ab	101,7ab	38,7 c	11,4 d
Ähren/Pflanze [%]	108,2 a	105,3ab	93,9 b	94,1 b	105,2ab	100,0ab	48,8 c	21,4 d
TKG [%]	100,5 a	100,5 a	101,2 a	101,4 a	100,0 a	100,3 a	89,2 b	79,9 c
Kornzahl/Ähre [%]	101,9 a	98,8 a	95,9 a	95,6 a	98,0 a	102,9 a	83,1 b	62,8 c
Wuchshöhe [%]	99,6 a	99,5 a	97,7 a	98,9 a	98,2 a	98,7 a	87,0 b	70,3 c
Boniturnote	2,2 a	2,7 a	2,4 a	2,4 a	2,7 a	2,5 a	3,9 b	4,9 c
Auswinterung [%]	0,5 c	0,7 c	0,5 c	1,4 bc	1,2 bc	1,0 bc	2,1 b	3,3 a
Differenz im Ährenschieben [d]	98,6 a	106,0 a	98,8 a	97,4 a	99,6 a	106,4 a	101,5 a	100,1 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,13 d	0,09 d	0,62 b	0,69 b	0,44 c	0,66 b	1,04 a	1,07 a
	Gudow							
Kornertrag/Pflanze [%]	103,0ab	106,0 a	94,8ab	89,9 b	100,0ab	102,3ab	47,8 c	24,9 d
Ähren/Pflanze [%]	102,3 a	108,4 a	99,7 a	100,6 a	104,6 a	104,4 a	63,4 b	39,7 c
TKG [%]	100,4 a	100,3 a	99,3 a	97,4 a	100,5 a	99,4 a	88,7 b	80,0 c
Kornzahl/Ähre [%]	100,8 a	99,3ab	97,0ab	92,2 b	95,5ab	100,1ab	83,4 c	69,6 d
Wuchshöhe [%]	99,2 a	99,1 a	98,6 a	98,5 a	97,8 a	96,9 a	91,2 b	75,9 c
Boniturnote	2,7 a	2,5 a	3,1 b	3,2 b	3,1 b	3,1 b	4,5 c	5,5 d
Differenz im Ährenschieben [d]	0,4 c	-0,0 c	0,7 bc	0,47 c	0,4 c	0,6 bc	1,6ab	2,3 a
Auswinterung [%]	102,9 a	107,3 a	101,7 a	106,9 a	101,3 a	106,4 a	105,0 a	113,0 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,27 d	0,41 d	0,98ab	1,02ab	0,74 c	1,02ab	1,11 a	0,89 bc
	Irlbach							
Kornertrag/Pflanze [%]	96,4 a	97,5 a	92,4 a	94,0 a	91,4 a	91,0 a	54,8 b	23,6 c
TKG [%]	101,4 a	102,1 a	101,0 a	100,6 a	101,0 a	100,7 a	90,8 b	86,2 b
Wuchshöhe [%]	99,5 a	99,4 a	99,4 a	97,0 a	100,7 a	100,4 a	90,4 b	76,4 c
Boniturnote	2,9 a	3,0 b	3,5 c	3,7 c	3,4 bc	3,4 bc	4,5 d	5,7 e
Auswinterung [%]	0,8 c	0,8 c	1,9 bc	1,2 bc	1,4 bc	1,8 bc	2,6ab	3,7 a
Differenz im Ährenschieben [d]	100,8 a	95,5 a	110,9 a	100,1 a	107,3 a	101,6 a	106,3 a	102,3 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,42 c	0,52 c	1,50 a	1,58 a	1,22 b	1,55 a	1,52 a	1,47 a

Tabelle A 16: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population `RIL K4-56´ x `DH21-136´ in Abhängigkeit von der Allelkombination in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009 (4 Standorte); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb der Jahre

Allelkombination/ Merkmal	2008							
	<i>Ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>Ryd3</i>	<i>ryd3</i>	<i>ryd3</i>
	<i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd2</i> QTL-	<i>Ryd2</i> QTL+	<i>Ryd2</i> QTL-	<i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd2</i> QTL-	<i>ryd2</i> QTL+	<i>ryd2</i> QTL-
Kornertrag/Pflanze [%]	105,0 ab	107,7 a	92,7 b	93,5 b	101,1 ab	101,9 ab	48,8 c	23,2 d
Ähren/Pflanze [%]	105,3 ab	109,0 a	94,3 b	100,7 ab	105,3 ab	102,6 ab	55,7 c	35,0 d
TKG [%]	99,3 a	100,7 a	98,8 a	100,8 a	100,8 a	99,8 a	88,8 b	84,6 c
Kornzahl/Ähre [%]	101,3 a	101,6 a	98,4 ab	92,0 bc	98,8 ab	100,9 a	85,5 c	65,6 d
Wuchshöhe [%]	98,3 a	98,8 a	97,2 a	96,1 a	98,4 a	97,9 a	88,3 b	73,4 c
Boniturnote	2,2 a	2,4 ab	2,7 c	3,1 d	2,5 bc	2,4 abc	3,7 e	4,9 f
Differenz im Ährenschieben [d]	0,9 cd	0,8 d	1,1 cd	1,6 bc	1,3 cd	1,1 cd	2,3 b	3,3 a
Auswinterung [%]	99,2 a	99,2 a	104,6 a	102,9 a	100,8 a	101,2 a	101,4 a	99,2 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,31 e	0,38 e	1,32 c	1,50 ab	1,11 d	1,24 cd	1,55 a	1,37 bc
2009								
Kornertrag/Pflanze [%]	112,7 a	108,3 a	105,9 a	102,0 a	106,8 a	108,6 a	52,5 b	28,3 c
Ähren/Pflanze [%]	112,7 a	108,3 a	105,9 a	102,0 a	106,8 a	108,6 a	52,5 b	28,3 c
TKG [%]	99,7 a	99,6 a	99,4 a	96,9 a	98,1 a	98,7 a	85,1 b	76,2 c
Kornzahl/Ähre [%]	101,5 a	98,3 a	94,3 a	96,5 a	96,3 a	100,9 a	72,9 b	58,3 c
Wuchshöhe [%]	99,6 a	99,3 a	99,7 a	99,5 a	97,4 a	98,3 a	84,5 b	71,1 c
Boniturnote	2,8 a	2,9 a	3,2 b	3,3 b	3,4 b	3,4 b	5,1 c	6,2 d
Auswinterung [%]	-0,2 b	0,0 b	0,9 b	0,6 b	0,5 b	1,0 b	3,0 a	4,1 a
Differenz im Ährenschieben [d]	99,2 a	112,9 a	101,8 a	100,8 a	102,5 a	105,8 a	97,0 a	109,3 a
ELISA-Extinktion (405nm)	0,21 f	0,28 e	0,85 c	0,94 b	0,66 d	0,95 b	1,14 a	1,08 a

Die folgenden Tabellen A17 bis A24 sind Auszüge aus der Ausgabedatei der Statistiksoftware SAS 9.1. In der Regel beruhen die Analysen wegen einzelner fehlender Werte auf einem unbalancierten Datensatz. Für die Varianzanalyse wurden die relativen Werte als Leistung der infizierten Variante / Leistung der nichtinfizierten Variante berechnet. Angegeben sind jeweils die Freiheitsgrade (FG), die mittlere Quadratsumme (MQ), der Fehler (F) und die Varianzkomponente für die einzelnen Varianzursachen.



Tabelle A 17: Varianztabelle des relativen Korntrages/Pflanze bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136`; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	26,06	184,83	<0,0001
Wiederholung	1	0,03	0,19	0,66
Standort	3	0,79	5,58	0,00
Jahr	1	0,35	2,51	0,11
Genotyp*Standort	21	0,33	2,38	0,00
Genotyp*Jahr	7	0,22	1,53	0,15
Genotyp*Standort*Jahr	24	0,21	1,52	0,05

Tabelle A 18: Varianztabelle der relativen Ährenzahl/Pflanze bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136`; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	16,08	170,78	<0,0001
Wiederholung	1	0,20	2,08	0,15
Standort	2	1,20	12,77	<0,0001
Jahr	1	0,60	6,41	0,01
Genotyp*Standort	14	0,22	2,29	0,00
Genotyp*Jahr	7	0,21	2,26	0,03
Genotyp*Standort*Jahr	16	0,25	2,63	0,00

Tabelle A 19: Varianztabelle des relativen TKG bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136`; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	1,28	118,21	<0,0001
Wiederholung	1	0,02	2,16	0,14
Standort	3	0,42	38,74	<0,0001
Jahr	1	0,30	27,32	<0,0001
Genotyp*Standort	21	0,02	1,39	0,11
Genotyp*Jahr	7	0,05	4,30	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	24	0,04	3,73	<0,0001

Tabelle A 20: Varianztabelle der relativen Kornzahl/Ähre bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136`; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	3,38	99,01	<0,0001
Wiederholung	1	0,07	1,96	0,16
Standort	2	0,06	1,71	0,18
Jahr	1	0,39	11,35	0,00
Genotyp*Standort	14	0,11	3,22	<0,0001
Genotyp*Jahr	7	0,15	4,45	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	16	0,04	1,18	0,27

Tabelle A 21: Varianztabelle der relativen Wuchshöhe bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136`; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	1,93	195,17	<0,0001
Wiederholung	1	0,00	0,00	0,98
Standort	3	0,25	25,10	<0,0001
Jahr	1	0,00	0,00	0,98
Genotyp*Standort	21	0,04	3,61	<0,0001
Genotyp*Jahr	7	0,04	4,18	0,00
Genotyp*Standort*Jahr	24	0,05	5,01	<0,0001

Tabelle A 22: Varianztabelle der Differenz im Ährenschieben bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	243,79	36,56	<0,0001
Wiederholung	1	0,38	0,06	0,81
Standort	3	65,74	9,86	<0,0001
Jahr	1	207,69	31,14	<0,0001
Genotyp*Standort	21	14,67	2,20	0,00
Genotyp*Jahr	7	33,87	5,08	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	16	43,42	6,51	<0,0001

Tabelle A 23: Varianztabelle der relativen Auswinterung bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	0,11	1,21	0,30
Wiederholung	1	0,02	0,24	0,62
Standort	3	0,53	6,00	0,00
Jahr	1	0,32	3,59	0,06
Genotyp*Standort	21	0,14	1,62	0,04
Genotyp*Jahr	7	0,16	1,83	0,08
Genotyp*Standort*Jahr	16	0,18	1,98	0,01

Tabelle A 24: Varianztabelle der ELISA-Extinktion der infizierten Variante bei den DH-Linien der Population 'RIL K4-56' x 'DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen

	FG	MQ	F	P
Genotyp	7	71,01	540,92	<0,0001
Wiederholung	1	0,73	5,57	0,02
Standort	3	83,94	639,39	<0,0001
Jahr	1	38,17	290,75	<0,0001
Genotyp*Standort	7	2,64	20,12	<0,0001
Genotyp*Jahr	21	1,85	14,09	<0,0001
Genotyp*Standort*Jahr	8	2,01	15,33	<0,0001

### 8.2.3 BYDV-PAV Übertragungsversuch im Gewächshaus

Tabelle A 25: Mittlere ELISA-Extinktionen in den inokulierten Pflanzen (Zielpflanzen) in Abhängigkeit von der Virusquelle; R = *Ryd2/Ryd3/QTL+*, S = *ryd2/ryd3/QTL-*

		Extinktion Virusquelle				
		R		S		
		0,26	0,78	1,03	1,66	
Extinktion Zielpflanze	R	0,48	0,22	0,13	0,25	0,28
	S	1,38	1,33	1,37	1,19	1,33
		0,93	0,78	0,75	0,68	
		0,87		0,72		

### 8.2.4 DH-Population `Post` x `Vixen` I

Tabelle A 26: Mittlere absolute Leistung der DH-Linien und Kreuzungseltern der Population `Post` x `Vixen` I in der nichtinfizierten Kontrolle (2-jähriges Mittel)

Merkmal	DH-Linien	`Post`	`Vixen`
Kornertrag/ Pflanze [g]	22,0	30,3	22,6
Ähren/Pflanze	20,1	17,0	24,5
TKG [g]	3,7	3,7	4,8
Kornzahl/Ähre	31,6	56,2	19,3
Wuchshöhe [cm]	122,0	109,4	108,8

Tabelle A 27: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Linien der Population `Post` x `Vixen` I in den erfassten Merkmalen nach WDV-Inokulation (2-jähriges Mittel)

Merkmal	Kornertrag /Pflanze [%]	Ähren /Pflanze [%]	TKG [%]	Kornzahl /Ähre [%]	Wuchshöhe [%]
Ähren/Pflanze [%]	0,22				
TKG [%]	0,12	0,72			
Kornzahl/Ähre [%]	0,30	0,42	0,37		
Wuchshöhe [%]	-	0,81	0,63	0,36	
Boniturnote (BN)	-	-0,75	-0,54	-0,27	-0,91

$\alpha = 0,05$ ; nach Spearman

### 8.2.5 DH-Population `Post` x `Vixen` II

Tabelle A 28: Mittlere absolute Leistung der DH-Linien und Kreuzungseltern der Population `Post` x `Vixen` II in der nichtinfizierten Kontrolle im WDV-Feldversuch 2008/2009

Merkmal	Mittelwert	`Post`	`Vixen`
Kornertrag/Pflanze [g]	19,4	33,5	22,3
Ähren/Pflanze	16,5	19,7	23,9
TKG [g]	4,2	3,4	4,9
Kornzahl/Ähre	29,6	45,5	19,1
Wuchshöhe [cm]	128,0	129,8	111,7

Tabelle A 29: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Linien der Population `Post` x `Vixen` II in den erfassten Merkmalen im WDV-Feldversuch 2008/2009

Merkmal	Kornertrag /Pflanze [%]	Ähren /Pflanze [%]	TKG [%]	Kornzahl /Ähre [%]	Wuchshöhe [%]
Ähren/Pflanze [%]	0,95				
TKG [%]	0,73	0,65			
Kornzahl/Ähre [%]	0,87	0,71	0,58		
Wuchshöhe [%]	0,88	0,88	0,67	0,72	
Boniturnote (BN)	-0,91	-0,92	-0,66	-0,73	-0,97

$\alpha = 0,05$ ; nach Spearman

## 9 Abkürzungsverzeichnis

AFLP	Amplified Fragment Length Polymorphism
BBG	Bernburg
bp	Basenpaar(e)
BYDV	<i>Barley yellow dwarf virus</i>
cM	centiMorgan
CTAB	Cetyltrimethylammoniumbromid
CYDV	<i>Cereal yellow dwarf virus</i>
DAS-ELISA	Double Antibody Sandwich-ELISA
DH	doppelhaploid
DNA	Desoxyribonukleinsäure
dNTPs	äquimolare Mischung der 2'-Desoxyribonukleosidtriphosphate dATP, dGTP, dCTP, dTTP
$E_{405}$	Extinktion bei 405 nm
EDTA	Ethylendiamintetraacetat
ELISA	Enzyme Linked Immunosorbent Assay
$g$	Erdbeschleunigung ( $g = 981 \text{ m/s}^2$ )
F	Fehler (in der Varianzanalyse)
FG	Freiheitsgrade
$\text{H}_2\text{O}_{\text{td}}$	Tridestilliertes Wasser
ha	Hektar
IgG	Immunglobulin G
JKI	Julius Kühn-Institut
LOD	Likelihood of Odds Ratio
MAS	Marker Assisted Selection
Mb	Megabasen
PBS	Phosphat buffered saline
PCR	Polymerase Chain Reaction
p-NPP	para-Nitrophenylphosphat
PVP	Polyvenylpyrrolidon
QLB	Quedlinburg
QTL	Quantitative Trait Locus/Loci (pl.)
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RIL	Recombinante Inbred Line
RFLP	Restriction Fragment Length Polymorphism
RNA	Ribonukleinsäure
SSR	Simple Sequence Repeat
STS	Sequence Tagged Site
TBE	Tris-EDTA-Puffer
TE (-Puffer)	Trishydroxymethylaminomethan
TKG	Tausendkorngewicht
U	Unit
WDV	<i>Wheat dwarf virus</i>

## **10 Tabellen- und Abbildungsverzeichnis**

### ***Tabellen***

Tabelle 2-1: Aufspaltung der im Feldversuch 2008 und 2009 getesteten DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in die entsprechenden Allelkombinationen.....	24
Tabelle 2-2: Aufspaltung der im Feldversuch 2007/2008 und 2008/2009 getesteten DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136` in die entsprechenden Allelkombinationen .....	24
Tabelle 2-3: Pflanz- und Erntetermine der DH-Linien `RIL K-56` x `DH21-136` für die Feldversuche an den verschiedenen Standorten .....	26
Tabelle 2-4: Pflanz- und Erntetermine der DH-Linien `RIL K4-56` x `Coracle` für die Feldversuche an den verschiedenen Standorten.....	27
Tabelle 2-5: Boniturskala zur Erfassung der Symptomausprägung nach BYDV- bzw. WDV-Infektion .....	29
Tabelle 2-6: ELISA-Verfahren: Zusammensetzung der verwendeten Puffer und Lösungen.....	31
Tabelle 2-7: DNA-Extraktion: Zusammensetzung der verwendeten Puffer und Lösungen.....	33
Tabelle 2-8: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches (10 µl-Ansatz) für YlpPCR.....	34
Tabelle 2-9: Thermocycler-Programm für YlpPCR.....	34
Tabelle 2-10: Zusammensetzung der Lösung des Restriktionsverdau (20 µl-Ansatz) der PCR-Produkte von YlpPCR .....	34
Tabelle 2-11: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches (10 µl-Ansatz) für HVM74 .....	36
Tabelle 2-12: Thermocycler-Programm für HVM74 .....	36
Tabelle 2-13: Zusammensetzung des PCR-Reaktionsgemisches (10 µl-Ansatz) für HVCSG.....	36
Tabelle 2-14: Thermocycler-Programm für HVCSG .....	36
Tabelle 2-15: Molekulare Marker von Chromosom 2HL, die für die Makerabsättigung verwendet wurden .....	38
Tabelle 3-1: Segregation der DH-Linienpopulation `RIL K4-56` x `Coracle`.....	41
Tabelle 3-2: Segregation der DH-Linienpopulation `RIL K4-56` x `DH21-136`.....	41

---

Tabelle 3-3: Relative Leistungen der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards `Vada` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen entsprechender Genotypen im Mittel der vier Versuchsstandorte und zwei Jahre .....	42
Tabelle 3-4: Relative Leistungen der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in den Allelkombinationen nach BYDV-Infektion im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen für die getesteten Merkmale im Mittel der vier Standorte und der zwei Versuchsjahre .....	44
Tabelle 3-5: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Sommergersten DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen in den erfassten Merkmalen über die vier Versuchsstandorte und zwei Jahre .....	46
Tabelle 3-6: Schätzwert der operativen Heritabilität ( $h^2$ ) für die relativen Werte der untersuchten Merkmale bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen, erfasst an vier Standorten und in zwei Jahren .....	46
Tabelle 3-7: Relative Leistungen der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards `Rubina` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Mittel der vier Versuchsstandorte und zwei Jahre.....	47
Tabelle 3-8: Relative Leistungen der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136` in den Allelkombinationen nach BYDV-Infektion im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Mittel der acht Umwelten (4 Standorte, 2 Jahre) .....	49
Tabelle 3-9: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Wintergersten DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen in den erfassten Merkmalen über vier Versuchsstandorte und zwei Jahre.....	51
Tabelle 3-10: Schätzwert der operativen Heritabilität ( $h^2$ ) für die relativen Werte der Merkmale bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136` nach BYDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen, erfasst an vier Standorten und in zwei Jahren .....	51
Tabelle 3-11: Relative Leistungen der Kreuzungseltern `Post` (tolerant) und `Vixen` (anfällig) sowie des anfälligen Standards `Rubina` nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Mittel über die Feldversuche 2006/2007 und 2008/2009 .....	55
Tabelle 3-12: Relative Leistung nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen und Note der Symptombonitur bei den DH-Linien der	

Population `Post` x `Vixen` I in den WDV-Feldversuchen 2006/2007 und 2008/2009.....	55
Tabelle 3-13: Eigenschaften der neu identifizierter QTL (2009) mit LOD größer 3 in der Population `Post` x `Vixen` I; der Marker mit dem jeweilig höherem LOD-Wert ist fettgedruckt.....	57
Tabelle 3-14: Mittlere relative Leistungen der Kreuzungseltern `Post` (tolerant) und `Vixen` (anfällig) und des anfälligen Standards `Rubina` nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2008/2009.....	59
Tabelle 3-15: Mittlere relative Merkmalsausprägung bei den DH-Linien der Population `Post` x `Vixen` II nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2008/2009 nach WDV-Inokulation .....	60
Tabelle 3-16: Eigenschaften identifizierter QTL mit LOD größer 3 in der Population `Post` x `Vixen` II (2009); Marker mit höchstem LOD-Wert sind fettgedruckt.....	66
(Tabellen im Anhang)	
Tabelle A 1: Zusammenfassung der in den Feldversuchen durchgeführten Pflanzenschutzmaßnahmen.....	103
Tabelle A 2: Molekulare Marker, die in der DH-Population `Post` x `Vixen` II analysiert wurden, mit Angabe der verwendete PCR-Reaktionsgemische und Thermocycler-Programme .....	105
Tabelle A 3: Thermocycler-Programme und Zusammensetzung der Reaktionsgemische für die PCR .....	109
Tabelle A 4: Leistungen der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in der nicht infizierten Variante in Abhängigkeit von der Allelkombination im Mittel an 4 Standorten in 2 Jahren .....	111
Tabelle A 5: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in Abhängigkeit von der Allelkombination an den verschiedenen Versuchsstandorten in den Versuchsjahren 2008 und 2009; unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb des Versuchsstandortes .....	112
Tabelle A 6: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in Abhängigkeit von der Allelkombination in den Versuchsjahren 2008 und 2009 (4 Standorte); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb der Jahre .....	112

---

Tabelle A 7: Varianztabelle des relativen Kornertrages/Pflanze in den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle'; Genotyp = Allelkombinationen .....	113
Tabelle A 8: Varianztabelle der relativen Ährenzahl/Pflanze bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen .....	113
Tabelle A 9: Varianztabelle des relativen TKG bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen .....	113
Tabelle A 10: Varianztabelle der relativen Kornzahl/Ähre bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen .....	113
Tabelle A 11: Varianztabelle der relativen Wuchshöhe bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen .....	114
Tabelle A 12: Varianztabelle der Differenz im Ährenschieben bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen .....	114
Tabelle A 13: Varianztabelle der ELISA-Extinktion der infizierten Variante bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `Coracle; Genotyp = Allelkombinationen.....	114
Tabelle A 14: Mittlere Leistungen der DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136' in der nichtinfizierten Variante in Abhängigkeit von der Allelkombination.....	114
Tabelle A 15: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136' in Abhängigkeit von der Allelkombination an den vier Versuchsstandorten in den Versuchsjahren 2007/2008 und 2008/2009; unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb des Versuchsstandortes ....	115
Tabelle A 16: Mittlere relative Leistung der DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136' in Abhängigkeit von der Allelkombination in den Versuchsjahren 2008 und 2009 (4 Standorte); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede der Allelkombinationen in diesem Merkmal innerhalb der Jahre .....	116
Tabelle A 17: Varianztabelle des relativen Kornertrages/Pflanze bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen.....	117
Tabelle A 18: Varianztabelle der relativen Ährenzahl/Pflanze bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen .....	117
Tabelle A 19: Varianztabelle des relativen TKG bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen .....	117
Tabelle A 20: Varianztabelle der relativen Kornzahl/Ähre bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen .....	117



Tabelle A 21: Varianztabelle der relativen Wuchshöhe bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen .....	117
Tabelle A 22: Varianztabelle der Differenz im Ährenschieben bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen .....	118
Tabelle A 23: Varianztabelle der relativen Auswinterung bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen .....	118
Tabelle A 24: Varianztabelle der ELISA-Extinktion der infizierten Variante bei den DH-Linien der Population `RIL K4-56' x `DH21-136'; Genotyp = Allelkombinationen.....	118
Tabelle A 25: Mittlere ELISA-Extinktionen in den inokulierten Pflanzen (Zielpflanzen) in Abhängigkeit von der Virusquelle; R = <i>Ryd2/Ryd3/QTL+</i> , S = <i>ryd2/ryd3/QTL-</i> .....	118
Tabelle A 26: Mittlere absolute Leistung der DH-Linien und Kreuzungseltern der Population `Post' x `Vixen' I in der nichtinfizierten Kontrolle (2-jähriges Mittel).....	119
Tabelle A 27: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Linien der Population `Post' x `Vixen' I in den erfassten Merkmalen nach WDV-Inokulation (2-jähriges Mittel) .....	119
Tabelle A 28: Mittlere absolute Leistung der DH-Linien und Kreuzungseltern der Population `Post' x `Vixen' II in der nichtinfizierten Kontrolle im WDV-Feldversuch 2008/2009 .....	119
Tabelle A 29: Korrelationen (r) zwischen den relativen Leistungen der Linien der Population `Post' x `Vixen' II in den erfassten Merkmalen im WDV-Feldversuch 2008/2009 .....	119

## **Abbildungen**

Abbildung 2-1: Fragmentgrößen der PCR-Produkte von YlpPCRM nach dem Restriktionsverdau mit Hsp92 II .....	34
Abbildung 2-2: PCR-Produkte von HVM74 mit Kopplung zu dem Toleranzallel 180 bp (oben) und dem Anfälligkeitsallel 188 bp (unten) von <i>Ryd3</i> (Standard zur geräte-internen Berechnung der Fragmentgrößen bei 160, 180, 190, 200 und 220 bp) .....	35
Abbildung 2-3: PCR-Produkte von HVCSG mit Kopplung zu dem Toleranzallel 219 bp (oben) und dem Anfälligkeitsallel 211 bp (unten) des QTL 2H (Standard zur geräteinternen Berechnung der Fragmentgrößen bei 190, 200, 220, 240 bp).....	35

---

Abbildung 2-4: Kopplungskarte des Chromosoms 2H vor der Markerabsättigung (Scheurer et al. 2001) .....	38
Abbildung 3-1: Elternlinien `Coracle` und `RIL K4-56`, sowie anfälliger Standard `Vada` zum Erntetermin (je 10 Pflanzen) in den Varianten Kontrolle (hinten) und BYDV-infiziert (vorne) am Standort Quedlinburg 2009 .....	43
Abbildung 3-2: Mittelwerte und Standardabweichung der ELISA-Extinktionen (405 nm) der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `Coracle` in Abhängigkeit von der Allelkombination am <i>Ryd2</i> und <i>Ryd3</i> -Locus, sowie der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards `Vada` (4 Standorte, 2 Jahre); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in der ELISA-Extinktion ( $\alpha = 0,05$ ).....	45
Abbildung 3-3: Mittelwerte und Standardabweichung der ELISA-Extinktionen (405 nm) der DH-Linien der Population `RIL K4-56` x `DH21-136` in Abhängigkeit von der Allelkombination am <i>Ryd2</i> -, <i>Ryd3</i> - und QTL-2H-Locus, sowie der Kreuzungseltern und des anfälligen Standards `Rubina` (4 Standorte, 2 Jahre); unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede in der ELISA-Extinktion ( $\alpha = 0,05$ ) .....	50
Abbildung 3-4: ELISA-Extinktionen vier Wochen nach der BYDV-PAV Übertragung in Abhängigkeit vom Genotyp und der Extinktion der Virusquelle („Donor“-Pflanze).....	52
Abbildung 3-5: Genetische Kopplungskarte des Chromosoms 2H nach der Einbringung weiterer Marker (grau) auf dem langen Arm (links), sowie Lage des QTL für den relativen Kornertrag pro Pflanze auf Chromosom 2H (Ausschnitt; rechts) .....	53
Abbildung 3-6: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population `Post` x `Vixen` I für den mittleren relativen Kornertrag nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen über beide Versuchsjahre .....	56
Abbildung 3-7: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population `Post` x `Vixen` I für die mittlere relative Halmlänge nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen über beide Versuchsjahre .....	56
Abbildung 3-8: Positionen der QTL für Symptombonitur (BN), relatives TKG und relative Halmlänge auf den Chromosomen 4H, 2H und 1H in der Population `Post` x `Vixen` I .....	59
Abbildung 3-9: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population `Post` x `Vixen` II für den relativen Kornertrag nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2009.....	61

---

Abbildung 3-10: Häufigkeitsverteilung der DH-Linien der Population `Post` x `Vixen` II für die relative Halmlänge nach WDV-Inokulation im Vergleich zu nicht-inokulierten Pflanzen im Feldversuch 2009 .....	61
Abbildung 3-11: Genetische Kopplungskarte der DH-Population `Post` x `Vixen` II; Marker mit gestörter Segregation sind mit * gekennzeichnet.....	63
Abbildung 3-12: Positionen der QTL in der Population `Post` x `Vixen` II auf der Grundlage der Felddaten 2009 für die verschiedenen Merkmale auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 4H; Marker, die als Cofaktoren verwendet wurden sind unterstrichen .....	65
Abbildung 3-13: Polymorphismus des Mikrosatellitenmarkers HVM3 mit einer Fragmentgröße von 157 bp bei der Sorte `Post` und 190 bp bei `Vixen` .....	67

## **Danksagung**

Zum Gelingen dieser Arbeit haben verschiedene Personen und Einrichtungen auf unterschiedliche Art und Weise beigetragen. Ihnen gebührt mein herzlichster Dank, auch wenn hier nicht alle namentlich genannt werden können.

Mein Dank gilt Frau Professor Dr. Inge Broer, die sich bereit erklärt hat meine Promotion an der Universität Rostock zu betreuen. Ganz besonders möchte ich mich bei Direktor und Prof. Dr. Frank Ordon bedanken, der mir die Möglichkeit gab ein interessantes und abwechslungsreiches Thema zu bearbeiten und mich dabei stets gefördert und unterstützt hat. Ich danke für das in mich gesetzte Vertrauen.

Frau Dr. Antje Habekuß danke ich herzlich für die intensive Betreuung und verlässliche Unterstützung bei organisatorischen, fachlichen und praktischen Belangen im Rahmen der Arbeit, sowie die kritische Durchsicht der vorliegenden Dissertationsschrift.

Für die jederzeit tatkräftige Unterstützung bei den praktischen Arbeiten möchte ich der Arbeitsgruppe von Frau Dr. Habekuß danken, hier in besonderem Maße Gudrun Meißner und Dörte Grau. Die umfangreichen Feldversuche, Bonituren und ELISAs wären ohne ihren immerwährenden Arbeitseinsatz nicht zu bewältigen gewesen. Bedanken möchte ich mich auch bei Dr. Edgar Schliephake und den Mitarbeitern seiner Arbeitsgruppe für die unkomplizierte Bereitstellung der Blattläuse, Mithilfe beim ELISA und die Unterstützung bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse.

Für die Begleitung meiner ersten Schritte im molekulargenetischen Labor und Rat und Tat bei Analysen und Auswertung möchte ich Dr. Ilona Krämer mit Arbeitsgruppe, sowie Dr. Dragan Perovic herzlich danken. Mein Dank gilt auch meinen Mit-Doktoranden für ein offenes Ohr, Erfahrungsaustausch und hilfreiche Tipps. An die Doktoranden-Zimmer-Atmosphäre und die Treffen nach Feierabend denke ich gerne zurück.

Für die Finanzierung sei dem BMELV (PGI-06.01-28-1-41.002-06) und der Gesellschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP), sowie den beteiligten Züchtungsunternehmen KWS Lochow GmbH, Saatenunion Biotec GmbH, Saatzucht Dr. J. Ackermann & Co und Nordsaat Saatzuchtgesellschaft mbH für die Bereitstellung der DH-Linien und die Durchführung von Feldversuchen gedankt.

Nicht zuletzt meinen Eltern danke ich herzlich für ihre fortwährende Unterstützung und ihr Interesse an meiner Arbeit.

## **Selbstständigkeitserklärung**

---

Hiermit erkläre ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Hilfsmittel benutzt zu haben. Die Stellen der Arbeit, die inhaltlich oder wörtlich anderen Werken entnommen sind, wurden unter Angabe der Quellen kenntlich gemacht.

Ich versichere außerdem, dass die beigefügte Dissertation nur in diesem und keinem anderen Promotionsverfahren eingereicht wurde und, dass diesem Promotionsverfahren keine gescheiterten Promotionsverfahren vorausgegangen sind.

Freising, den 04.02.2013

Christine Riedel

## Thesen

1. Die durch Insekten übertragenen Viruskrankheiten *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) und *Wheat dwarf virus* (WDV) werden durch den Fortgang des prognostizierten Klimawandels mit ansteigenden Temperaturen durch regelmäßig auftretende erhebliche Ertragsverluste weiter an Bedeutung im Gerstenanbau gewinnen.
2. Der Anbau von gegenüber BYDV und WDV resistenten oder toleranten Sorten ist die langfristig effizienteste Methode um Ertragssicherheit zu gewährleisten, da die praxisübliche Vektorenbekämpfung mit Insektiziden oft witterungsbedingt an ihre Grenzen stößt. In Deutschland sind keine gegenüber BYDV oder WDV widerstandsfähigen Gerstensorten zugelassen.
3. Molekulare Marker sind bei der Resistenzzüchtung gegenüber von Insekten übertragenen Viruskrankheiten ein wichtiges Hilfsmittel, da die Virustestung sehr aufwändig ist und damit im praktischen Zuchtgang nicht durchzuführen ist.
4. Die markergestützte Pyramidisierung toleranzbedingender Allele ist eine Methode die bei der Gerste bereits erfolgreich zur Verbesserung der Resistenz z. B. gegenüber dem Mosaikvirus-Komplex angewendet wurde (Werner et al. 2005).
5. Von den Resistenzgenen, die zu Beginn der Arbeit in der Gerste gegenüber BYDV bekannt waren, bieten sich *Ryd2* (Chromosom 3H) und *Ryd3* (Chromosom 6H) und der QTL auf Chromosom 2H für eine Kombination an, insbesondere da es bereits Pflanzenmaterial gibt, in dem sowohl *Ryd2* als auch der QTL enthalten sind, und für alle Allele gekoppelte molekulare Marker vorhanden sind.
6. Die Toleranz der Sorte 'Post' ist derzeit der einzige Hinweis auf Widerstandsfähigkeit der Gerste gegenüber WDV. Durch QTL-Analysen kann diese Toleranz im Genom der Gerste lokalisiert und so für die Züchtung nutzbar gemacht werden.
7. Doppelhaploide (DH) Linien erleichtern durch ihre Homozygotie die Feststellung des Genotyps und die Abschätzung des Einflusses auf den Phänotyp, weshalb sie sowohl in der Pyramidisierung als auch für QTL-Analysen ein wichtiges Werkzeug sind.

8. Um in der Resistenztestung verlässliche Ergebnisse zu erzielen, muss ein hoher Infektionsdruck durch das Virus (BYDV, WDV) zustande kommen, welcher durch eine experimentelle Infektion mit Hilfe auf Virusquellen angezogener Vektoren (Blattlaus, Zikade) erreicht wird.
9. Die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* führte zu einer signifikanten Verringerung des Virusgehaltes (Virusextinktion, DAS-ELISA) und einer deutlich verringerten Infektionsrate gegenüber den genotypisch anfälligen Linien (*ryd2/ryd3*) und solchen mit den entsprechenden einzelnen positiven Allelen. Die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* führt damit zu einer quantitativen Resistenz gegenüber BYDV, wohingegen die einzelnen Resistenzallele von *Ryd2*, *Ryd3* und des QTL auf Chromosom 2H zwar eine verminderte Symptomausprägung bewirken, aber der Virusgehalt in den Pflanzen weiterhin auf hohem Niveau liegt (Toleranz).
10. Die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* führte in der Population 'RIL K4-56' x 'Coracle' zu einer höheren Leistung bei den Ertragsparametern wie relativem Kornertrag pro Pflanze bei BYDV-Infektion gegenüber den anderen Genotypen. In den DH-Linien der Kreuzung 'RIL K4-56' x 'DH21-136' war der Unterschied zu Linien mit nur einem der beiden Resistenzallele deutlich geringer ausgeprägt. Der QTL auf Chromosom 2H hat allgemein nur eine geringe Toleranzwirkung gegenüber BYDV im Vergleich zu den Resistenzallelen *Ryd2* und *Ryd3*.
11. In QTL-Analysen mit den genetischen und phänotypischen Daten zweier DH-Populationen der Kreuzungen 'Post' x 'Vixen' wurden QTL für Widerstandsfähigkeit gegenüber WDV auf den Chromosomen 1H, 2H, 3H und 4H detektiert. Der aussagekräftigste QTL ist jener auf Chromosom 4H, da er in beiden Populationen übereinstimmend für die Symptomausprägung und die relative Halmlänge im Bereich des SSR HVM3 zu finden ist. Er erklärt bis zu 32 % der phänotypischen Varianz der Populationen.
12. Die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* in Gerstensorten ist im Moment die beste Möglichkeit zur Züchtung BYDV-toleranter bzw. quantitativ resistenter Sorten. Weitere bekannte Toleranz- oder Resistenzquellen sind entweder weniger effektiv, wie der QTL auf Chromosom 2HL (Scheurer et al. 2001), bedürfen einer genaueren Charakterisierung, wie der QTL von Kraakman et al. (2006) oder sind

für die Züchtung noch nicht direkt nutzbar, wie es bei dem durch Scholz et al. (2009) in *Hordeum bulbosum* identifizierten Resistenzgen *Ryd4<sup>Hb</sup>* der Fall ist.

13. In der Gerstenzüchtung kann die markergestützte Kombination der Toleranzallele der Gene *Ryd2* und *Ryd3* aufgrund der Lokalisierung auf unterschiedlichen Chromosomen (3H, 6H) und der Verfügbarkeit der eng gekoppelten PCR-basierten Marker YlpPCRM und HVM74 (neben weiteren Markern wie HVM22 und HVM14, siehe Niks et al. 2004) mit relativ geringem Aufwand durchgeführt werden.
14. Die identifizierten QTL zur WDV-Toleranz der Sorte 'Post' sind der erste Hinweis darauf, dass an der Toleranzausprägung in Gerste mehrere Gene beteiligt sind. Weitere Untersuchungen sind jedoch notwendig um die Ergebnisse zu bestätigen und die Effizienz und damit den Wert der identifizierten QTL in anderem genetischen Hintergrund abzuschätzen, ehe diese Toleranz züchterisch genutzt werden sollte.