

Nachwuchswissenschaftlerforum 2009

stem rust resistance gene (*Sr13*) that is effective against Ug99. A total of 152 isolates was analyzed and 22 races were identified. Races TTKSR, TTHSR and RRTR were predominant with frequencies of 26.6, 17.7 and 11.1%, respectively. These races were also detected in all regions. It turned out that the highly virulent race designated as Ug99 was present throughout the country and dominated in all regions except Northwest Ethiopia. Four stem rust resistance genes (*Sr13*, *Sr30*, *Sr36* and *SrTmp*) were found to confer resistance to most of the races prevalent in Ethiopia. With the exception of *Sr30*, which is not effective to Ug99, the other three genes can be used in breeding for resistance to stem rust in Ethiopia. The genetic structure of selected *Pgt* isolates was investigated using 20 SSRs. The assays showed a high level of genetic diversity within *Pgt* populations in Ethiopia. Tests for population subdivision revealed the absence of genetic differentiation among the populations on the basis of geographic separation. This study shows that the pathogen population of Ethiopia is characterized by a high genetic diversity, but absence of differentiation based on geographic origin. *Sr13* is one of the few resistance genes that are effective against wide ranging *Pgt* races, including the pestilent race Ug99. Its effectiveness to Ug99 makes it a valuable source for resistance to stem rust. Based on SSR analyses of F₂ individuals derived from a cross of a susceptible and resistant parents, the *Sr13* locus was mapped on chromosome 6A of wheat. Five SSR markers were also found linked to the *Sr13* gene.

Keywords: Wheat, stem rust, Sr resistance gene, Ethiopia, SSR markers

König, J.; Perovic, D.; Kopahnke, D.; Przulj, N.; Romeis, T.; Ordon, F.

Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz (RS), Quedlinburg

Kartierung der Zwergrostresistenz der Gerste MBR1012

Genetic mapping of leaf rust resistance in barley accession MBR1012

Zusammenfassung

Der Zwergrost gehört zu den wichtigsten Krankheitserregern der Gerste und kann im gemäßigten Klima Ertragsverluste von über 60 % verursachen. Auf der Suche nach neuen Resistenzquellen wurde in der aus Serbien Montenegro stammenden Landrasse MBR1012 eine wirksame Resistenz gegenüber Zwergrost identifiziert. Um die Vererbung der Resistenz dieser Landrasse aufzuklären, wurden 76 DH-Linien aus der Kreuzung der resistenten Landrasse MBR1012 mit der anfälligen Sorte Scarlett mit der hochvirulenten Zwergroststrasse I80 künstlich inokuliert. Die Spaltung der DH-Population nach der Inokulation mit I80 zeigte, dass die Resistenz monogenetisch vererbt wird. Basierend auf den Ergebnissen der bulked segregant analysis konnte die Resistenz dem Chromosom 1H zugeordnet werden und eng gekoppelte molekulare Marker entwickelt werden, welche eine beschleunigte Übertragung dieser Resistenz in adaptierte Sorten erlauben. Die Suche nach neuen Resistenzen gegen *Puccinia hordei* ist von besonderer Bedeutung, da die Rostpilze durch Mutation und Rekombination zahlreiche physiologische Rassen bilden, wodurch Resistenzen relativ schnell überwunden werden können.

Stichwörter: Gerste (*Hordeum vulgare* L.), Zwergrost (*Puccinia hordei* Oth), Resistenz, bulked segregant analysis (BSA), DH-Linien (doubled-haploid).

Abstract

Leaf rust (*Puccinia hordei* Oth) is an economically important disease of barley in temperate regions, causing considerable yield losses up to about 60 %. Resistance to leaf rust has been detected in a landrace derived from Serbia Montenegro (MBR1012). To obtain information on the genetics of resistance of MBR1012 to leaf rust, 76 DH-lines derived from a cross of MBR1012 to the susceptible cv. Scarlett were inoculated using the highly virulent leaf rust isolate I80. It turned out that resistance is inherited in a monogenic manner and by bulked segregant analysis resistance was assigned to chromosome 1H. Next closely linked molecular markers were developed facilitating an efficient introgression into adapted cultivars. Broadening the genetic base of resistance to leaf rust is of special importance as this pathogen is able to overcome resistances quickly due to mutation and recombination.

Keywords: Barley (*Hordeum vulgare* L.), leaf rust (*Puccinia hordei* Oth), resistance, bulked segregant analysis (BSA), DH-lines (doubled-haploid)

Einleitung

Der Pilz *Puccinia hordei* Oth ist der Erreger des Zwergrosts der Gerste (*Hordeum vulgare*) und gehört zu den obligaten Parasiten. Der Wirtswechsel erfolgt beim Zwergrost zwischen *Hordeum* und *Ornithogalum* Arten. Der Schaderreger *P. hordei* ist ein wirtschaftlich wichtiges Gerstenpathogen, das in gemäßigten Breiten bei anfälligen Kulturen Ertragseinbußen von bis zu 60 % verursachen kann (Cotterill et al 1992). Aus wirtschaftlichen und ökologischen Gründen ist der Einsatz von Fungiziden nach Möglichkeit zu beschränken, so dass resistente Sorten die beste Alternative für einen gesunden Bestand sind. Doch gestaltet sich die Züchtung dauerhaft rostresistenter Sorten schwierig, da bei den Rosten eine große Zahl morphologisch meist nicht unterscheidbarer physiologischer Rassen auftritt, die durch Mutation und Neukombination entstehen (Bresinsky et al 2008). Aus diesem Grund ist die Identifikation neuer Resistenzträger und deren genetische Analyse von besonderer Bedeutung. In diesem

Zusammenhang untersuchten wir die Landrasse MBR1012 in der eine Resistenz gegenüber Zwergrost identifiziert werden konnte (Perovic et al. 2003).

Material und Methoden

Pflanzen- und Pilzmaterial: Um die Zwergrostresistenz auf genetischer Ebene beschreiben zu können, wurde die resistente Landrasse MBR1012 mit der anfälligen Sorte Scarlett gekreuzt und aus den Nachkommen DH-Linien erzeugt. Hiervon wurden insgesamt 76 DH-Linien mit dem Zwergrost-Isolate I80 getestet und phänotypisch beschrieben. Als Pathogen wurde das hochvirulente Isolat I80 des Zwergrosterregers *Puccinia hordei* ausgewählt, dessen Reaktion in einem Differenzialsortiment nach Afanasenko et al. (1995) charakterisiert wurde. Für die Bonitur wurden 5-10 Blätter pro DH-Linie im Sämlingsalter infiziert (Ivandić et al. 1998). Die Bonitur der Zwergrostsymptome erfolgte 10-12 Tage nach der Infektion anhand des Schemas von Levine and Cherewick (1952). Die Linien mit den Boniturnoten von 2+– 4 wurden als anfällig eingestuft und die Linien mit einer Boniturnote 0 – 2- in der Gruppe der resistenten Linien zusammengefasst. Für die statistische Auswertung der Aufspaltung der DH-Population wurde ein Chi²-Test (Strickberger 1988) durchgeführt.

Genetische Kartierung: Für eine effektive Suche nach mit der Resistenz gekoppelten Markern wurde die bulked segregant Analyse (BSA) nach Michelmore et al. (1991) angewandt. Basierend auf den phänotypischen Daten wurden jeweils 10 anfällige bzw. resistente DH-Linien in einer Mischprobe zusammengefasst. Für die Kartierung der Zwergrostresistenz wurden 192 SSR (simple sequence repeats) Marker und 102 SNP (single nucleotide polymorphism) basierte Marker verwendet. Zur Errechnung der Rekombinationen zwischen den einzelnen Markern und somit zur Erstellung der genetischen Karte wurde das Computerprogramm Joinmap 3.0 (Stam 1993) verwendet.

Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse der Spaltungsanalyse der DH-Linien sind in Abbildung 1 dargestellt. Die Spaltungsanalyse ergibt wie in Abbildung 1 zu sehen ist eine eindeutige 1s:1r –Segregation der DH-Linien. Dies wird auch durch den Chi²-Test ($\chi^2 = 0,013$) bestätigt, wodurch eine monogene Vererbung der Zwergrostresistenz nachgewiesen werden konnte.

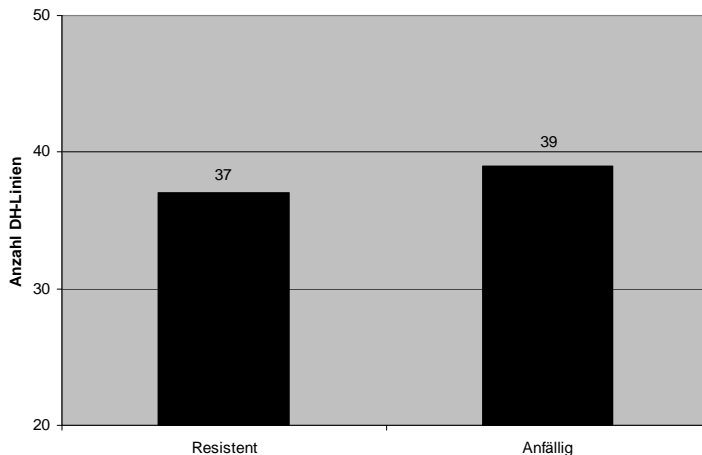


Abb. 1 Aufspaltung der DH-Linien in anfällige und resistente Phänotypen nach der Inokulation mit dem Isolat I80

Für das Screening nach Polymorphismen zwischen den Eltern und dem anfälligen und resistenten *bulks* wurden 192 SSR- und 102 SNP basierte Marker verwendet, von denen insgesamt 120 Marker polymorph waren. Basierend auf den Ergebnissen der BSA konnte die Resistenz auf Chromosom 1H lokalisiert werden. Daraufhin war es möglich mit den 22 polymorphen Markern auf 1H eine genetische Karte zu erstellen, die in Abbildung 2 dargestellt ist. Die Marker mit der engsten Kopplung flankieren die Zwergrostresistenz in einem Abstand von 3,2 bzw. 4,6 cM.

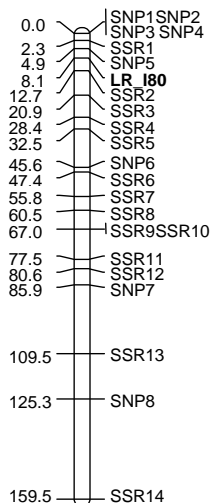


Abb. 2 Genetische Karte des Chromosoms 1H der Kreuzung MBR1012 x Scarlett mit der Zwergrostresistenz gegenüber dem Isolat I80

Mit dem Zwergrostisolat I80, das für die Tests verwendet wurde, wurden bereits Untersuchungen von Kicherer et al. (2000) durchgeführt, die in der DH-Population HOR1063 x Krona einen QTL für Zwergrostresistenz auf dem Chromosom 2H identifizierten. Die Resistenz gegen das Isolat I80 in MBR1012 beruht jedoch auf einem Hauptgen und nicht auf einem QTL. Wie in der genetischen Karte in Abbildung 2 zu erkennen ist, liegt die Resistenz gegen das Zwergrostisolat I80 im telomeren Bereich des Chromosoms 1HS. Das einzige ebenfalls in der Gerste auf dem Chromosom 1H kartierte Zwergrost-resistenzgen ist *Rph4* (Park et al. 2003). Um zu bestätigen, dass es sich bei der in MBR1012 identifizierten Resistenz um ein neues Resistenzgen handelt, sind Alleltestungen vorgesehen, ebenso wie eine weitere Markerabsättigung zur Identifikation enger gekoppelter Marker.

Literatur

- Afanasenکو, O., Hartleb, H., Guseva, N., Minarikova, V., Janosheva, M. (1995). A Set of Differentials to Characterize Populations of *Pyrenophora teres* Drechs. for International use. *Journal of Phytopathology* 143, 501-507.
- Bresinsky, A., Körner, Ch., Kadereit, J.W., Neuhaus, G., Sonnwald, U. (2008). *Strasburger - Lehrbuch der Botanik*. Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg 2008 36. Auflage, 678 – 701, 537 – 553.
- Cotterill, P.J., Rees, R.G., Platz, G.J. Dill-Macky, R. (1992). Effects of leaf rust on selected Australian barley. *Australian Journal of Experimental Agriculture* 32 (6), 747-751.
- Ivancic, V., Walther, U., Graner, A. (1998). Molecular mapping of a new gene in wild barley conferring complete resistance to leaf rust (*Puccinia hordei* Oth). *Theoretical and Applied Genetics*. 97, 1235 – 1239.
- Kicherer, S., Backes, G., Walther, U., Jahoor, A. (2000). Localising QTLs for leaf rust resistance and agronomic traits in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics* 100, 881 – 888.
- Levine, M.N., Cherewick, W.J. (1952). Studies on dwarf leaf rust of barley. *US Department of Agriculture Technical Bulletin* 1056, 1 – 17.
- Michelmore, R.W., Paran, I., Kesseli, R.V. (1991). Identification of markers linked to disease – resistance genes by bulked segregant analysis: A rapid method to detect markers in specific genomic regions by using segregating populations. *Genetics* Vol. 88, 9828 – 9832.
- Park, R.F., Poulsen, D., Barr, A.R., Cakir, M., Moody, D.B., Raman, H., Read, B.J. (2003). Mapping genes for resistance to *Puccinia hordei* in barley. *Australian Journal of Agricultural Research* 54, 1323-1333.
- Perovic, D., Stein, N., Zhang, H., Drescher, A., Prasad, M., Kota, R., Kopahnke, D., Graner, A. (2003). An integrated approach for comparative mapping in rice and barley with special reference to the *Rph16* resistance locus. *Functional & Integrative Genomics*, 1-10.
- Stam, P. (1993). Construction of integrated genetic linkage maps by means of a computer package: JOINMAP. *Plant Journal* 3, 739 – 744.
- Strickberger, M.W. (1988). *Genetik*. Carl Hanser Verlag München Wien Übersetzung der 3., amerikanischen Auflage, 126 – 140.