

Bernd Hackauf¹, Stefan Stojakowski², Heinrich Wortmann³, Peer Wilde⁴, Franz Joachim Fromme³, Jutta Menzel⁴, Viktor Korzun⁴, Peter Wehling¹

Minimierung des Mutterkornbefalls im Hybridroggen durch Ansätze der Präzisionszüchtung

Minimizing ergot infection in hybrid rye by a SMART breeding approach

15

Zusammenfassung

In Hybridsorten bei Winterroggen führt das Restorerogen *Rfp1* zu einer vollständigen Restauration der männlichen Fertilität und trägt dazu bei, die Kontamination des Erntegutes mit Mutterkorn zu minimieren. Wir beschreiben Ergebnisse zur Validierung neuer *Rfp1*-Selektionsmarker an Elitezuchtmaterial des Roggens. Für alle per molekularer Markeranalyse genotypisierten Individuen wurde eine perfekte Übereinstimmung zwischen der postulierten genetischen Konstitution am Restorerlocus *Rfp1* und dem Pollenschüttungsvermögen in den Testkreuzungsnachkommenschaften beobachtet. Rekombination zwischen den untersuchten *Rfp1*-Markern zeigt, dass die neuen Selektionsmarker dazu geeignet sind, rekombinativ verkleinerte, *Rfp1*-tragende Genomsegmente zu identifizieren. Es konnte gezeigt werden, dass die mit *Rfp1* assoziierten, eng gekoppelten Markerallele diagnostisch für *Rfp1* sind. Die vorgestellten Ergebnisse belegen, dass die neuen Selektionsmarker eine effiziente Genotypisierung aktueller Elitezuchtlinien im Hinblick auf das *Rfp1*-Restorerogen ermöglichen. Für die mit *Rfp1* assoziierten Selektionsmarker konnte in der vorliegenden Studie auch Kopplung mit dem Restorerogen *Rfc1* nachgewiesen werden. Diese Kopplungsbeziehungen lassen die validierten Marker daher für eine indirekte Selektion von Maintainer-Genotypen des C-Plasmas geeignet erscheinen. Die beobachtete Kopplung von STS-Markern zu

Rfp1 bzw. *Rfc1* bestätigt frühere Vermutungen, dass in dieser Region auf Chromosom 4RL entweder mehrere Restorerogene lokalisiert sind oder es sich bei den betreffenden Restorerogenen um Allele desselben Genortes handelt.

Stichwörter: *Secale cereale*, Hybridzüchtung, *Claviceps purpurea*, molekulare Marker, CMS, Restorer

Abstract

The restorer gene *Rfp1* results in an almost complete restoration of male fertility in hybrid rye varieties and, thus, contributes to minimize harvest contamination with ergot. Here, we report on the validation of recently established *Rfp1* markers located on chromosome 4RL in elite breeding lines of rye. The *Rfp1* genotypes, as deduced by molecular-marker analysis, perfectly corresponded with the degree of male fertility assessed in test crosses of individual genotypes with male sterile testers. Recombination could be observed between *Rfp1* markers indicating their potential to reduce the donor chromosome segment carrying *Rfp1*. These marker alleles proved to be diagnostic for *Rfp1* in current breeding lines. Taken together, results presented qualify the novel markers as efficient molecular tools to assess the restorer gene *Rfp1* in elite breeding lines of rye. In addition, we have observed link-

Institut

Julius Kühn-Institut – Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, Quedlinburg¹
 Agricultural University Szczecin, Department of Genetics and Plant Breeding, Szczecin Poland²
 Hybro GmbH & Co KG, Schenkenberg³
 KWS LOCHOW GmbH, Bergen⁴

Kontaktanschrift

Dr. Bernd Hackauf, Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, Erwin-Baur-Str. 27, 06484 Quedlinburg, Tel.: (038209) 45 207, E-Mail: bernd.hackauf@jki.bund.de

Zur Veröffentlichung angenommen
 Juli 2008

age of the *Rfp1* markers to the restorer gene *Rfc1*. Thus, the validated markers should be applicable for marker-assisted selection strategies of maintainer genotypes of the male sterility inducing C cytoplasm, which occur at low frequency in European rye populations as well. The observed linkage of the STS markers to both *Rfp1* and *Rfc1* supports the assumption that the restorer genes identified on chromosome 4RL are either alleles of a single restorer gene or represent different linked genes located in this sub-genomic region.

Key words: *Secale cereale*, hybrid breeding, *Claviceps purpurea*, molecular markers, cms, restorer

Einleitung

Roggen (*Secale cereale* L.) ist unter den kleinkörnigen Getreidearten die einzige fremdbefruchtende Art. Aufgrund seiner Blühbiologie ist er in besonderem Maße anfällig für die Ausbildung von Mutterkorn, welches durch die Infektion der Narben mit dem parasitischen Pilz *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. hervorgerufen wird. Als Mutterkorn werden die Überdauerungsorgane (Sklerotien) des Pilzes bezeichnet, die sich nach Infektion auf den Ähren bilden. Die Sklerotien enthalten als bedeutende Inhaltsstoffe Mutterkornalkaloide, welche bei Mensch und Tier Vergiftungen hervorrufen können. Eine technische Entfernung der Sklerotien aus dem Ernte- oder Saatgut ist ökonomisch aufwendig, so dass der Mutterkornbefall sowohl durch pflanzenbauliche als auch durch züchterische Maßnahmen verringert werden muss.

Beim Roggen ermöglicht Hybridzüchtung eine optimale Ausschöpfung des Ertragspotenzials von Erbkomponenten durch Maximierung der Heterozygotie in der Hybridsorte. Für die Produktion von Hybridsaatgut hat sich beim Roggen ein System der Befruchtungskontrolle durchgesetzt, welches auf der Nutzung der cytoplasmatischen männlichen Sterilität (CMS) beruht. Obwohl verschiedene sterilitätsinduzierende Cytoplasmen beschrieben worden sind (ŁAPINSKI, 1972; ADOLF und WINKEL, 1985; KOBYLJANSKI et al., 1994; WARZECHA und SALAK-WARZECHA, 1996), dominiert die Nutzung des Pampa (P)-Cytoplasmas (GEIGER und SCHNELL, 1970). Restorerogene aus europäischem Zuchtmaterial können die männliche Fertilität im P-Cytoplasma nur unvollständig restaurieren. Die unvollständige Restauration erhöht insbesondere bei ungünstiger, feuchter Witterung zum Zeitpunkt der Roggenblüte das Risiko einer Infektion der Ährchen mit *C. purpurea* (GEIGER und MIEDANER, 1996). Effektivere, zu einer vollständigen Restauration der männlichen Fertilität führende Restorerogene sind in züchterisch nicht-adaptierten („exotischen“) genetischen Ressourcen identifiziert worden (GEIGER und MIEDANER, 1996). Diese als *Rfp1* und *Rfp2* bezeichneten, dominanten Restorerogene sind auf Chromosom 4RL kartiert worden und bedingen eine sehr gute Restauration der männlichen Fertilität im P-Cytoplasma (MIEDANER et al., 2000). Gene für die Restauration der männlichen Fertilität im C-Cytoplasma (STOJA-

ŁOWSKI et al., 2004, 2005) und G-Cytoplasma (BÖRNER et al., 1998) wurden ebenfalls beschrieben und werden dementsprechend als *Rfc*- bzw. *Rfg*-Gene bezeichnet.

Für die Restorerogene *Rfp1* und *Rfp2* konnten flankierende, einem dominanten Erbgang folgende PCR-Marker entwickelt werden (STRACKE et al., 2003). Von diesen wurde der Marker *SCXX04* für die markergestützte Selektion von *Rfp1* in kommerziellen Züchtungsprogrammen eingesetzt. Mit der Überführung der neuen Restorerogene exotischer Provenienz in adaptiertes Zuchtmaterial wurden auch unerwünschte Gene für größere Wuchshöhe übertragen (MIEDANER et al., 2000). Die Wuchshöhe ist dabei eng gekoppelt mit der Restaurationsfähigkeit. Um diese genetische Korrelation von Restauration und Wuchshöhe aufzubrechen, sind weitere molekulare Selektionsmarker erforderlich, die enger als die bislang verfügbaren Marker mit der Restaurationsfähigkeit gekoppelt sind und es somit erlauben, bei der züchterischen Selektion auf gute Restauration die unerwünschten Wuchshöhe-Gene auszuklammern. Durch einen vergleichenden Ansatz der Genkartierung und die Nutzung des vollständig entschlüsselten Reisgenoms als Modell sind kürzlich für *Rfp1* sequenzspezifische (sequence tagged site, STS) Marker beschrieben worden (HACKAUF et al., 2006, 2007). Die enge Kopplung sowie der kodominante Erbgang dieser STS-Marker eröffnen neue Perspektiven, um Zuchtmaterial des Pollenelter-Genpools markergestützt und mit einer zuvor nicht möglichen Präzision mit dem Restorergen *Rfp1* auszustatten und damit das Pollenschüttungsvermögen von Hybriden zu verbessern.

In vorliegender Arbeit beschreiben wir Ergebnisse zur Validierung der neuen *Rfp1*-Selektionsmarker an Elitezuchtmaterial des Roggens. Darüber hinaus berichten wir über die Charakterisierung der durch die Selektionsmarker definierten Region auf Chromosom 4RL in einer für das Restorergen *Rfc1* aufspaltenden Kartierungsfamilie, um zu prüfen, ob diese STS-Marker auch für markergestützte Selektion in anderen CMS-Systemen des Roggens nutzbar sind.

Material und Methoden

Für die Markeranalysen standen neben Elitezuchtmaterial der Hybro GmbH & Co. KG, Kleptow, sowie der KWS Lochow GmbH, Bergen, eine für das Restorergen *Rfc1* spaltende F2-Familie im C-Cytoplasma aus der Kreuzung der männlichen sterilen Inzuchtlinien 544cms-C und der Restorerlinie Ot0-20 (STOJAŁOWSKI et al., 2004, 2005) zur Verfügung. Zur Validierung der *Rfp1*-Marker wurden 482 Individuen aus Elitelinien der KWS Lochow, in die das dominante Restorergen *Rfp1* eingelagert worden ist, mit Hilfe der Marker *Xiac69*, *Xiac86*, *Xiac76* und *SCXX04* genotypisiert. In einem weiteren Experiment wurden 281 S2-Linien aus dem Pollenelterformenkreis der Hybro im Hinblick auf die Präsenz der *Rfp1*-Allele für die Markercloci *Xiac69*, *Xiac86*, *Xiac76* untersucht. Für die Markeranalysen wurden jeweils 8 Einzelpflanzen einer S2-Linie zu einer Mischprobe zusammengefasst. Um die Expres-

sion des *Rfp1*-Gens im Untersuchungsmaterial zu bestimmen, wurde das beschriebene Material auf männlich sterile Tester ausgekreuzt. Der Grad der Fertilität in den Testkreuzungsnachkommenschaften wurde durch visuelle Bonitur der Antheren nach dem Schema von GEIGER und MORGENSTERN (1975) erfasst. Die Analyse der Marker erfolgte wie zuvor beschrieben (HACKAUF et al., 2006, 2007). Die statistische Auswertung zur Beurteilung der Beziehung zwischen männlicher Fertilität und molekularen Markern erfolgte wie früher dargestellt (STOJAŁOWSKI et al., 2004; STOJAŁOWSKI, 2007).

Ergebnisse

Elitelinien mit eingelagertem *Rfp1*

Unter Verwendung des dominanten Markers *SCXX04* konnte lediglich in 50 (10,4%) von 482 untersuchten Individuen das mit der Anwesenheit von *Rfp1* assoziierte DNA-Fragment („Allel“) dieses Markers nachgewiesen werden; 432 (89,6%) der Individuen waren hingegen *SCXX04*-negativ. In 36 (72%) der 50 *SCXX04*-positiven Proben konnte auch für die kodominanten Marker *Xiac69*, *Xiac86* und *Xiac76* das jeweilige mit *Rfp1* assoziierte Marker-DNA-Fragment nachgewiesen werden. Unter den verbliebenen 14 Proben war in 12 der Marker *Xiac76* indikativ für die Präsenz von *Rfp1*; zwei weitere Proben wurden anhand ihres *Xiac86*-Marker-genotyps als *Rfp1*-positiv eingestuft. Unter den *SCXX04*-negativen Genotypen offenbarte sich Rekombination zwischen den untersuchten Markern auf Chromosom 4RL (Abb. 1). In 365 (84,5%) der für *SCXX04*-negativen Proben ließ mindestens einer der beiden kodominanten Marker, *Xiac86* oder *Xiac76*, auf die die Präsenz von *Rfp1* im homo- oder heterozygoten Zustand schließen.

Die Zuverlässigkeit der mittels markergestütztem DNA-Fingerprinting durchgeführten Genotypisierung wurde anschließend durch die Phänotypisierung derselben Pflanzen validiert. Als Phänotyp wurde dabei das Pollenschüttungsvermögen von Testkreuzungsnachkommen verwendet. Für alle per molekularer Markeranalyse genotypisierten Individuen wurde eine perfekte Übereinstimmung zwischen der postulierten genetischen Konstitution am Restorerlocus *Rfp1* und dem Pollenschüttungsvermögen in den Testkreuzungsnachkommenschaften beobachtet (nicht gezeigt).

S2-Linien aus dem *Rfp1*-Einlagerungsprogramm

Mit den Markern *Xiac69*, *Xiac86* und *Xiac76* wurden 281 *S2*-Linien genotypisiert. Für den Marker *Xiac86* waren im untersuchten Material drei Fingerprint-Fragmente – A (Nullallel) sowie B und IR mit 1000bp bzw. 1100bp Größe – zu beobachten (nicht gezeigt). Am Locus *Xiac76* konnten im untersuchten Material nach *HaeIII*-Verdau des PCR-Produktes ebenfalls 3 Allele – A, B und IR mit 600bp, 800bp bzw. 700bp Größe – nachgewiesen werden (nicht gezeigt). Für beide Marker lassen sich die aus dem *Rfp1*-Donor stammenden Allele *Xiac86-IR* bzw. *Xiac76-IR* eindeutig von den jeweils anderen Allelen nach

Agarosegelelektrophorese differenzieren (nicht gezeigt). Im Untersuchungsmaterial waren diese beiden Allele nur in geringer Frequenz nachweisbar. Übereinstimmend mit den Pedigree-Daten war das Allel *Xiac86-IR* nur in einer *S2*-Familie (0,4%) zu beobachten, während das Markerallel *Xiac76-IR* in 5 Familien (1,8%) auftrat. Die molekulare Markeranalyse ermöglichte eine Gruppierung des Materials in 9 dihybride Markergenotyp-Klassen (Abb. 2). In vier der 281 Linien zeigte das Markerallel *Xiac76-IR* (Markerklassen M8 und M9) sowie die allelische Konstitution am Markerlocus *Xiac69* die Präsenz des Restorergens *Rfp1* an. Diese vier Linien erwiesen sich in der Phänotypisierung als die einzigen, die eine vollständige Restauration der männlichen Fertilität mit mehr als 80% voll fertiler Testkreuzungsnachkommen bewirken konnten (Abb. 2). Die auf der Grundlage des molekularen Fingerprintings postulierte genetische Konstitution am Restorer-Genort *Rfp1* stand somit in Übereinstimmung mit dem Restaurationsverhalten der untersuchten Linien.

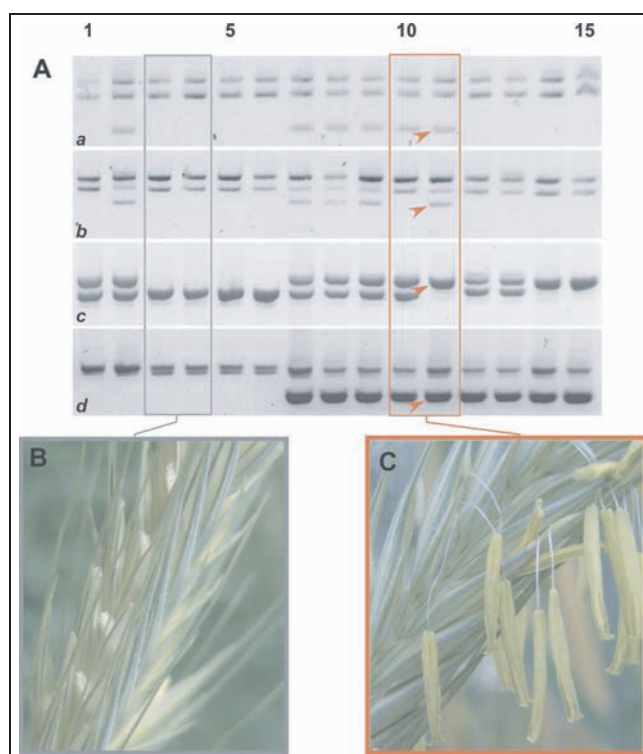


Abb. 1. Genetischer Fingerabdruck von 15 Roggenpflanzen zum Nachweis des Restorergens *Rfp1* (A). Die Abfolge der dargestellten Marker (a-d) entspricht ihrer Reihenfolge auf Roggenchromosom 4RL (HACKAUF et al., 2006). In Pflanze #2 liegt eine Rekombination zwischen dem Marker *SCXX04* (d) und den proximal lokalisierten Markern *Xiac76* (c), *Xiac86* (b) und *Xiac69* (a) vor; Pflanze #1 ist durch eine doppelte Rekombination zwischen *SCXX04* (d) und *Xiac76* (c) sowie zwischen *Xiac76* (c) und *Xiac86* (b) charakterisiert. Das Restorergen *Rfp1* kann mit Hilfe molekularer Marker (Pfeil) nachgewiesen werden. Fehlt das Restorergen, vermag die Pflanze keinen oder nur wenig Pollen zu produzieren (B) und die Blüte wird leicht zugänglich für den Mutterkornpilz. Die Gegenwart von *Rfp1* führt zu einer zu einer starken Pollenschüttung (C), die Roggenblüte wird unzugänglich für den gefährlichen Ährenparasiten.

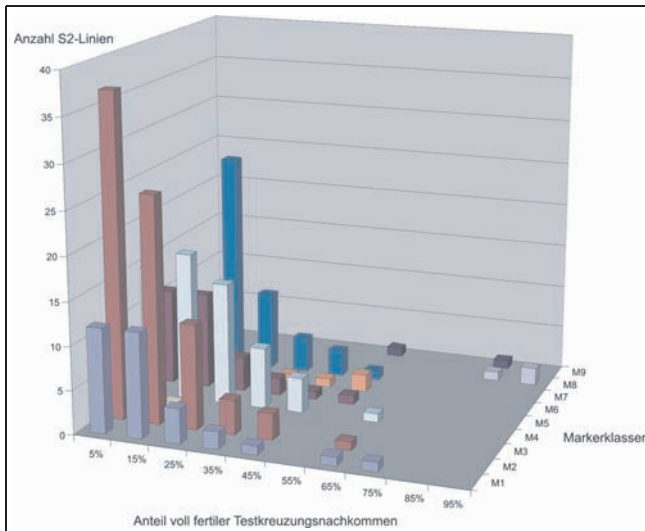


Abb. 2. Häufigkeitsverteilung des Pollenschüttungsvermögens in Testkreuzungsnachkommenschaften aus 281 S2-Linien, aufgeschlüsselt nach 9 Markerklassen. Für das Pollenschüttungsvermögen sind die Obergrenzen der Phänotypklassen in % voll fertiler Testkreuzungsnachkommen angegeben. Markerklasse M1: *Xiac86-A/Xiac76-A*, M2: *Xiac86-B/Xiac76-A*, M3: *Xiac86-IR/Xiac76-A*, M4: *Xiac86-A/Xiac76-B*, M5: *Xiac86-B/Xiac76-B*, M6: *Xiac86-A/Xiac76-H*, M7: *Xiac86-B/Xiac76-H*, M8: *Xiac86-A/Xiac76-IR*, M9: *Xiac86-B/Xiac76-IR*. *Xiac76-H* bezeichnet einen Genotyp, der beide Markerallele A und B am Locus *Xiac76* trägt. Für eine Erläuterung der anderen Allelsymbole dieser beiden Marker siehe Text.

Rfc1-Kartierungsfamilie

Zur weiteren Charakterisierung der durch die Selektionsmarker definierten Region auf Chromosom 4RL wurde die F2-Familie [544cms-C x Ot0-20] genotypisiert, die für ein im C-Cytoplasma restaurierendes Restorerergen, *Rfc1*, aufspaltet. Die in dieser Familie erstellte Kopplungskarte für Chromosom 4R beschreibt die Position von 25 Markern und definiert einen subgenomischen Bereich von 80,1 cM (Abb. 3). Dieser Bereich wird nicht gleichmäßig durch die Marker abgedeckt. Während im proximalen Bereich 5 Marker ein genetisches Intervall von 55,5 cM definieren, gruppieren sich die verbleibenden 20 Marker in einem Bereich von 24,6 cM. Zur Lokalisation des Restorerergens *Rfc1* wurde eine QTL-Intervallkartierung auf Grundlage einer visuellen Antherenbonitur durchgeführt, die eine enge Kopplung zwischen *Rfc1* und den Markern *Xiac70*, *Xiac74*, *Xiac76*, *Xiac86*, *SCP14M55*, *SCP15M55*, *SCP16M58* sowie *SCXX04* offenbart (Abb. 4). Das in diesem Intervall lokalisierte Restorerergen *Rfc1* erklärt 27,3% der phänotypischen Variation in der F2-Familie [544cms-C x Ot0-20]. Mit *Xiac74* konnte ein weiterer, kodominanter Marker in der Zielregion auf Chromosom 4RL kartiert werden, der bislang noch nicht in Beziehung zu einem Restorerergen im Roggen gesetzt werden konnte.

Diskussion

Die Verbesserung des Pollenschüttungsvermögens in Hybridsorten bei Winterroggen trägt dazu bei, die Kontami-

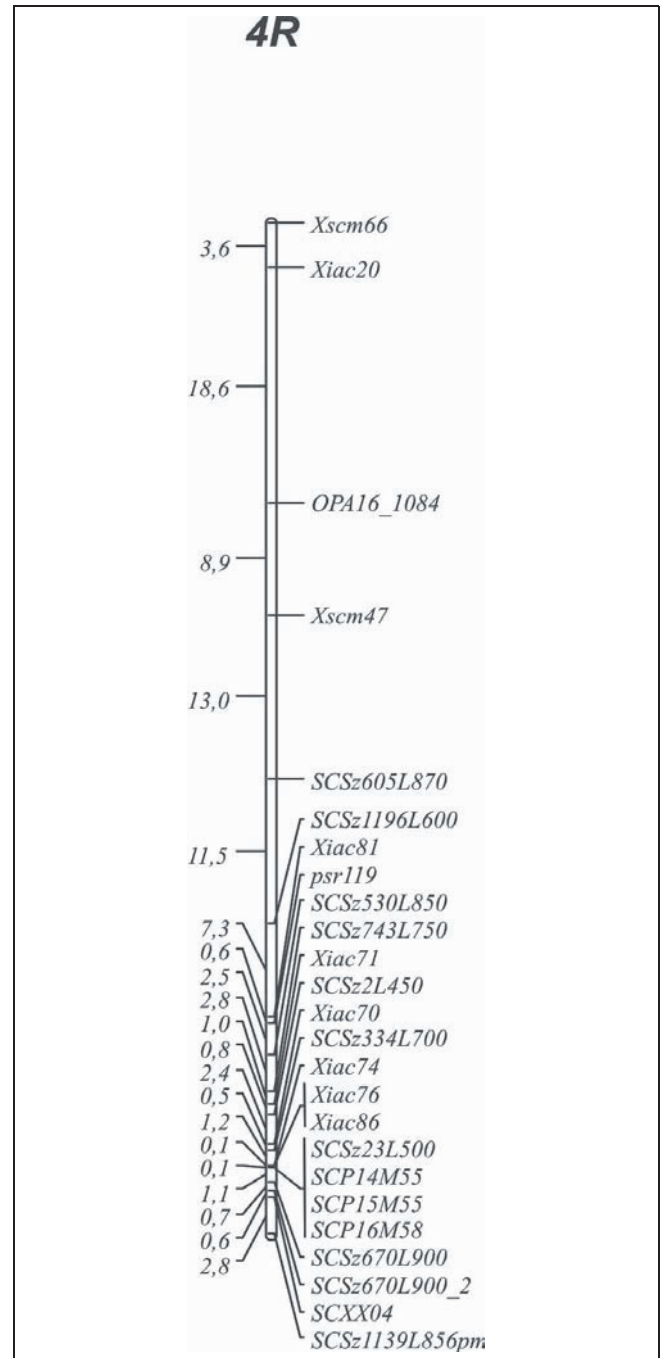


Abb. 3. Eine genetische Karte von Chromosom 4R in der F2 Familie 544cms-C x Ot0-20.

nation des Erntegutes mit Mutterkorn zu minimieren. Das Pollenschüttungsvermögen moderner Roggensorten kann durch Restorerergene, die in exotischen, für den Anbau selbst nicht geeigneten Roggenherkünften gefunden wurden (MIEDANER et al., 2000), entscheidend verbessert werden. Das direkte Erkennen solcher Gene in einer Pflanze ist jedoch nicht ohne weiteres möglich und erfordert zudem kostbare Zeit für Testkreuzungsprogramme und visuelle Bonitur der männlichen Fertilität zum Zeitpunkt der Blüte. Die markergestützte Selektion von Restorerergenen kann vor diesem Hintergrund wesentlich zur Beschleunigung des Zuchtprozesses beitragen, da die ge-

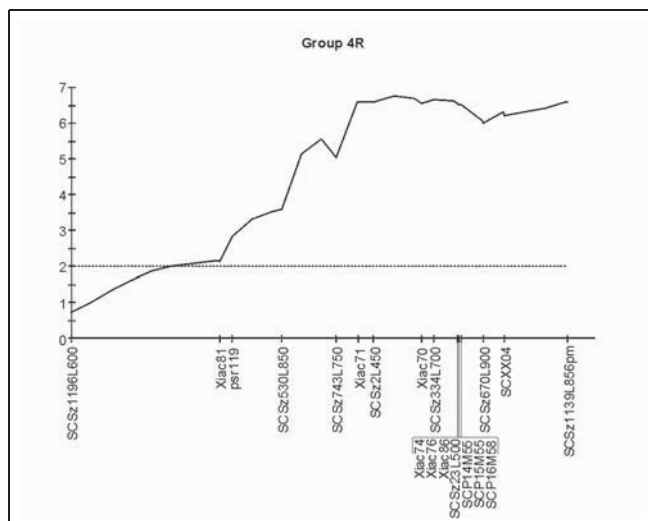


Abb. 4. LOD-score-Kurve über ein Marker-Intervall für die Restauration der männlichen Fertilität durch *Rfc1* in der Familie 544cms-C x Oto-20.

wünschte Information über das Vorhandensein des Restorergens frühzeitig und ohne aufwändige Testkreuzungen erfasst werden kann. Über einen vergleichenden Ansatz der Genkartierung ist es kürzlich gelungen, ein molekulares Diagnoseverfahren für das Restorerger *Rfp1* im Roggen zu optimieren (HACKAUF et al., 2006, 2007). Um das Potenzial der damit verfügbaren, neuen Marker im Hinblick auf den erzielbaren Zuchtfortschritt einschätzen zu können, ist es erforderlich, Zuchtmaterial verschiedener züchterischer Herkunft zu durchmustern und zu prüfen, in welchem Umfang die entwickelten molekularen Marker diagnostisch für die Anwesenheit des Restorergens sind.

Die in vorliegender Arbeit vorgestellten Ergebnisse belegen, dass die neuen Selektionsmarker eine effiziente Genotypisierung aktueller Elitelinien im Hinblick auf das *Rfp1*-Restorerger ermöglichen. Die perfekte Übereinstimmung der über die Markeranalyse abgeleiteten *Rfp1*-Genotypen mit dem Pollenschüttungsvermögen in den korrespondierenden Testkreuzungsnachkommenchaften bestätigen die zuvor in zwei Experimentalpopulationen (HACKAUF et al., 2006, 2007) postulierte Position der Marker relativ zu *Rfp1*. In einem Satz S2-Linien konnten die mit *Rfp1* assoziierten Markerallele nur nachgewiesen werden, wenn *Rfp1* zuvor in dieses so genannte Second-cycle-Material eingekreuzt worden ist. Dieser Befund zeigt, dass die mit *Rfp1* assoziierten, eng gekoppelten Markerallele diagnostisch für *Rfp1* sind. Unter Verwendung des dominanten Markers *SCXX04* waren fast 90% der untersuchten Einzelpflanzen bezüglich ihrer genetischen Konstitution am *Rfp1*-Locus nicht diagnostizierbar, weil das dominante Donor-Allel dieses von *Rfp1* relativ weit entfernten Markers infolge von Rekombination nicht mehr mit *Rfp1* assoziiert war. Demgegenüber konnten sämtliche der betreffenden rekombinanten Individuen mit einem oder mehreren der neuen Marker bezüglich der Präsenz von *Rfp1* sicher genotypisiert werden. Im Gegensatz zu den bislang verfügbaren, dominan-

ten *Rfp1*-Markern (STRACKE et al., 2003) ermöglichen es die neuen Marker mit ihrer kodominanten Ausprägung, im Rahmen von Kreuzungsprogrammen die wertvollen homozygoten *Rfp1*-Genotypen unter den Kreuzungsnachkommen effizient und sicher zu erkennen.

Ein oftmals in Rückkreuzungsprogrammen auftretendes Problem ist der so genannte 'linkage drag' (BRINKMAN und FREY, 1977; TANKSLEY et al., 1989), d.h. die gemeinsame Vererbung von erwünschten und züchterisch unerwünschten Merkmalsgenen, die aus dem exotischen Donor in das züchterisch adaptierte Elitematerial überführt wurden. Das Aufbrechen solcher Genkomplexe durch die natürliche, zufällige Rekombination erfolgt selten; daher ist es um so wichtiger, günstige Rekombinanten schnell und sicher zu erfassen. Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene Rekombination zwischen den untersuchten *Rfp1*-Markern zeigt, dass die neuen Selektionsmarker dazu geeignet sind, rekombinativ verkleinerte, *Rfp1*-tragende Genomsegmente zu identifizieren. Ob damit auch die beobachtete Korrelation von Restauration der männlichen Fertilität und unerwünschter Wuchshöhe (MIEDANER et al., 2000) aufgebrochen werden kann, ist in weiteren Untersuchungen zu prüfen. Zusammen mit weiteren, an anderer Stelle im Roggen genom kartierten molekularen Markern (SAAL und WRICKE, 1999; KORZUN et al., 2001; HACKAUF und WEHLING, 2003; KHLESTKINA et al., 2004, 2005; HACKAUF et al., 2008) ermöglichen die das Restorerger *Rfp1* eng flankierenden Marker eine wirkungsvolle Strategie, die *Rfp1*-Zielregion im Roggen genom markergestützt in Elitezuchtmaterial zu übertragen und effizient gegen den unerwünschten genetischen Hintergrund des Donorgenoms zu selektieren. Diese als Präzisionszüchtung oder auch SMART (Selection with Markers and Advanced Reproductive Technologies) Breeding (DAVIS et al., 1997) bezeichnete Züchtungsstrategie ist beispielsweise beim Reis zur Verbesserung der Toleranz gegenüber mehrere Wochen andauernde Überschwemmungen der Felder erfolgreich angewendet worden (XU et al., 2006).

Mittels Intervallkartierung konnten wir in der vorliegenden Arbeit zeigen, dass die mit *Rfp1* assoziierten Selektionsmarker auch mit dem Restorerger *Rfc1* gekoppelt sind. *Rfc1* restauriert eine durch das C-Cytoplasma induzierte männliche Sterilität (STOJAŁOWSKI et al., 2004, 2005). Im Gegensatz zum P-Plasma ist es aufgrund einer hohen Frequenz an Restorergergenotypen in Roggenpopulationen schwierig, für das C-Plasma, ebenso wie für andere Plasmen des Vavilov (V)-Typs (GEIGER, 1982; MELZ et al., 2003), geeignete Maintainergenotypen zu identifizieren. Bislang sind insbesondere RAPD- sowie die drei dominanten SCAR-Marker *SCP14M55*, *SCP15M55*, *SCP16M58* als gekoppelt zu *Rfc1* beschrieben worden (STOJAŁOWSKI et al., 2004, 2005). Die enge Kopplung der in vorliegender Arbeit validierten Marker mit *Rfc1* lassen diese Marker auch für eine indirekte Selektion von Maintainer-Genotypen des V-Plasmatyps geeignet erscheinen.

Die in vorliegender Studie beobachteten Kopplungsbeziehungen von STS-Markern zu *Rfp1* bzw. *Rfc1* liefern

weitere Evidenz für frühere Vermutungen (BÖRNER et al., 1998; STOJAŁOWSKI et al., 2005), nach denen in der betreffenden Region auf Chromosom 4RL entweder mehrere Restorerogene lokalisiert sind oder es sich bei den betreffenden Restorerogenen um Allele desselben Genortes handelt.

Literatur

- ADOLF, K., A. WINKEL, 1985: A new source of spontaneous sterility in winter rye. Preliminary results. In: Proc Eucarpia Meet Cereal Sect Rye. Svalöv, Sweden, pp. 293-307.
- BÖRNER, A., V. KORZUN, A. POLLEY, S. MALYSHEV, G. MELZ, 1998: Genetics and molecular mapping of a male fertility restoration locus (*Rfg1*) in rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. **97**, 99-102.
- BRINKMAN, M.A., K.J. FREY, 1977: Yield component analysis of oat isolines that produce different grain yield. Crop Sci. **17**, 165-168.
- DAVIS, G.P., M.J. D'OCCHIO, D.J.S. HETZEL, 1997: SMART Breeding: Selection with markers and advanced reproductive technologies. 12th Conf. Assoc. Adv. Anim. Breed Genet. **12**, 429-432.
- GEIGER, H.H., F.W. SCHNELL, 1970: Cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). Crop Sci. **10**, 590-593.
- GEIGER, H.H., 1982: Breeding methods in diploid rye (*Secale cereale* L.). Tag.-Ber., Akad. Landwirtschaftl.-Wiss. DDR, Berlin 198, 305-332.
- GEIGER, H.H., K. MORGENSTERN, 1975: Angewandt-genetische Studien zur cytoplasmatischen Pollensterilität bei Winterroggen. Theor. Appl. Genet. **46**, 269-276.
- GEIGER, H.H., T. MIEDANER, 1996: Genetic basis and phenotypic stability of male-fertility restoration in rye. Vortr. Pflanzenzüchtung **35**, 27-38.
- HACKAUF, B., P. WEHLING, 2003: Development of microsatellite markers in rye: map construction. Plant Breed. Seed Sci. **48**, 143-151.
- HACKAUF, B., H. WORTMANN, P. WEHLING, 2006: Nutzung von genomischen Ressourcen aus Reis und Gerste zur gezielten Markierung von Genen der Befruchtungskontrolle bei Roggen. Ber. 57. Tag. Vereinig. Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 33-36.
- HACKAUF, B., H. WORTMANN, P. WEHLING, 2007: Unravelling genomic regions involved in fertilization control in rye: advances and prospects. Vortr. Pflanzenzüchtung **71**, 210-216.
- HACKAUF, B., S. RUDD, J.J. VAN DER VOORT, T. MIEDANER, P. WEHLING, 2008: Comparative mapping of DNA sequences in rye (*Secale cereale* L.) in relation to the rice genome. Theor. Appl. Genet., submitted
- KHLESTKINA, E.K., M.H. THAN, E.G. PESTSOVA, M.S. RODER, S.V. MALYSHEV, V. KORZUN, A. BORNER, 2004: Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. Theor. Appl. Genet. **109**, 725-732.
- KHLESTKINA, E.K., M.H. THAN, E.G. PESTSOVA, M.S. RODER, S.V. MALYSHEV, V. KORZUN, A. BORNER, 2005: Erratum: Mapping of 99 new microsatellite-derived loci in rye (*Secale cereale* L.) including 39 expressed sequence tags. Theor. Appl. Genet. **110**, 990-991.
- KOBYLYANSKI, V.D., A.G. KATEROVA, N.S. LAPIKOV, 1994: Production of source material for breeding hybrid rye in Russia. Genetika **30**, 1403-1412.
- KORZUN, V., S. MALYSHEV, A.V. VOYLOKOV, A. BÖRNER, 2001: A genetic map of rye (*Secale cereale* L.) combining RFLP, isozyme, protein, microsatellite and gene loci. Theor. Appl. Genet. **102**, 709-717.
- ŁAPIŃSKI, M., 1972: Cytoplasmic-genic type of male sterility in *Secale montanum* Guss. Wheat Inform. Serv. **35**, 25-28.
- MELZ, G., G. MELZ, F. HARTMANN, 2003: Genetics of a male-sterile rye of 'G-type' with results of the first F1-hybrids. Plant Breed. Seed Sci. **47**, 47-55.
- MIEDANER, T., H.H. GEIGER, 1997: Fortschritte in der Hybridzüchtung bei Winterroggen. Ber. Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft der Saatzüchtleiter, Gumpenstein, 51-56.
- MIEDANER, T., C. GLASS, F. DREYER, P. WILDE, H. WORTMANN, H.H. GEIGER, 2000: Mapping of genes for male-fertility restoration in 'Pampa' CMS winter rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. **101**, 1226-1233.
- SAAAL, B., G. WRICKE, 1999: Development of simple sequence repeat markers in rye (*Secale cereale* L.). Genome **42**, 964-972.
- STOJAŁOWSKI, S., M. ŁAPIŃSKI, P. MASOJC, 2004: RAPD markers linked with restorer genes for the C-source of cytoplasmic male sterility in rye (*Secale cereale* L.). Plant Breed. **123**, 428-433.
- STOJAŁOWSKI, S., M. JACIUBEK, P. MASOJC, 2005: Rye SCAR markers for male fertility restoration in the P cytoplasm are also applicable to marker-assisted selection in the C cytoplasm. J. Appl. Genet. **46**, 371-373.
- STOJAŁOWSKI, S., 2007: Molecular Marker linkage map for localising male-fertility restorer genes in rye with CMS-C cytoplasm. Vortr. Pflanzenzüchtung **42**, 250-252.
- STRACKE, S., A.G. SCHILLING, J. FÖRSTER, C. WEISS, C. GLASS, T. MIEDANER, H.H. GEIGER, 2003: Development of PCR-based markers linked to dominant genes for male-fertility restoration in Pampa CMS of rye (*Secale cereale* L.). Theor. Appl. Genet. **106**, 1184-1190.
- TANKSLEY, S.D., N.D. YOUNG, A.H. PATERSON, M.W. BONIERBALE, 1989: RFLP mapping in plant breeding: new tools for an old science. Bio/Technology **7**, 257-264.
- WARZECHA, R., K. SALAK-WARZECHA, 1996: Comparative studies on cms sources in rye. Vortr. Pflanzenzüchtung **35**, 39-49.
- XU, K., X. XU, T. FUKAO, P. CANLAS, R. MAGHIRANG-RODRIGUEZ, S. HEUER, A.M. ISMAIL, J. BAILEY-SERRES, P.C. RONALD, D.J. MACKILL, 2006: Sub1A is an ethylene-response-factor-like gene that confers submergence tolerance to rice. Nature **442**, 705-708.