

BÖLN

Bundesprogramm Ökologischer Landbau
und andere Formen nachhaltiger
Landwirtschaft

Erfassung genetischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendophytisch wachsenden Pilzen und deren Auswirkungen auf die Stresstoleranz

Estimation of the genetic diversity of wheat with regard to the mycorrhization of roots and the impact on stress tolerance

FKZ: 10OE078

Projektnehmer:

Julius Kühn-Institut
Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz
Erwin-Baur-Straße 27, 06484 Quedlinburg
Tel.: +49 3946 47-602
Fax: +49 3946 47-600
E-Mail: rs@jki.bund.de
Internet: www.jki.bund.de

Autoren:

Lehnert, Heike; Serfling, Albrecht; Ordon, Frank

Gefördert durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft.

Die inhaltliche Verantwortung für den vorliegenden Abschlussbericht inkl. aller erarbeiteten Ergebnisse und der daraus abgeleiteten Schlussfolgerungen liegt beim Autor / der Autorin / dem Autorenteam. Bis zum formellen Abschluss des Projektes in der Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft können sich noch Änderungen ergeben.

Abschlussbericht

Erfassung genetischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendophytisch wachsenden Pilzen und deren Auswirkungen auf die Stresstoleranz.

Förderkennzeichen: 2810OE078

Zuwendungsempfänger:

Julius Kühn-Institut

Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz

Erwin Baur-Straße 27

06484 Quedlinburg

Laufzeit: 01.07.2011 bis 30.11.2014

Autoren: Heike Lehnert, Albrecht Serfling und Frank Ordon

Kontakt:

Frank Ordon

Julius Kühn-Institut

Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz

Erwin Baur-Straße 27

06484 Quedlinburg

E-Mail: frank.ordon@jki.bund.de

Kurzfassung (deutsch)

Weizen (*Triticum aestivum*) ist eine der bedeutendsten Kulturpflanzen für die menschliche Ernährung. Die Notwendigkeit sowohl unter veränderten Klimabedingungen mit häufiger auftretenden abiotischen und biotischen Stresssituationen als auch auf Grenzstandorten langfristig stabile Erträge zu erzielen, führt im konventionellen und insbesondere im ökologischen Landbau zu einem Bedarf an Weizengenotypen mit verbesserter abiotischer und biotischer Stresstoleranz. Neben der Verbesserung der Stresstoleranz per se, stellt die Nutzung der Mykorrhiza eine Möglichkeit zur Verbesserung der Stresstoleranz dar.

Das Ziel des Vorhabens war es daher genetische Unterschiede des Brotweizens (*Triticum aestivum*) bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendopytisch wachsenden Pilzen zu identifizieren, um damit die Grundlagen zu schaffen, entsprechende Unterschiede zukünftig züchterisch nutzbar zu machen. Desweiteren sollten die Auswirkungen der Mykorrhizierung auf die Biomasse- und Kornertragsbildung unter biotischen und abiotischen Stressbedingungen wie Pathogenbefall, Trockenstress oder Phosphormangel, welche verstärkt unter ökologischen Produktionsbedingungen auftreten, sowie entsprechende Wechselwirkungen erfasst und mittels assoziationsgenetischer Studien molekulare Marker für diese Parameter identifiziert werden. Das Projekt leistete damit einen Beitrag zur Anpassung von Kulturpflanzen an den Klimawandel.

Zu diesem Zweck wurden in den Versuchsjahren 2011, 2012, 2013 und 2014 an 103 Weizengenotypen Gewächshausversuche zur Mykorrhizierbarkeit, sowie der Ermittlung von Trockenstress- und Phosphormangeltoleranz (30 Genotypen) angelegt. Zudem wurden in den Versuchsjahren 2012/13 und 2013/14 Feldversuche zur Mykorrhizierung von Weizengenotypen unter Freilandbedingungen, sowie ein Freilandversuch zur Bestimmung der Krankheitsanfälligkeit von Weizen gegenüber *Blumeria graminis* und *Puccinia triticina* nach Mykorrhizierung durchgeführt. Parallel dazu erfolgte eine Genotypisierung mittels 90k iSelect Chip. Somit konnte eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS) zur Identifikation von QTL, die an Trockenstresstoleranz und Mykorrhizierung beteiligt sind, durchgeführt werden.

Alle untersuchten Genotypen konnten erfolgreich durch Mykorrhizapilze besiedelt werden, wobei die Art *Glomus intraradices* der Hauptbesiedler war. Es konnte gezeigt werden, dass eine breite genotypische Variation für das Merkmal Mykorrhizierung existiert, sowohl unter Normal-, Trockenstress- als auch Phosphormangelbedingungen. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die Mykorrhizierung bei der Mehrheit der untersuchten Genotypen zu Ertragssteigerungen unter Mangelbedingungen führte, jedoch auch Genotypen auftraten, die mit Ertragsreduktion unter bestimmten Umweltbedingungen reagierten. Es wurde keine Korrelation zwischen der Intensität der Besiedlung und dem Ertragseffekt beobachtet. Vielmehr war der Effekt der Mykorrhizierung auf den Ertrag von den Faktoren Genotyp und Umwelt abhängig. Weiterhin wurde gezeigt, dass eine Mykorrhizierung von Weizen unter Feldbedingungen in geringem Maß möglich war und auch hier genotypische Unterschiede in der Intensität der Besiedlung auftraten. Es konnten jedoch keine signifikanten Ertragsunterschiede zwischen der mykorrhizierten und nicht mykorrhizierten Variante ermittelt werden. Nach der künstlichen Inokulation von Weizen mit *Blumeria graminis* und *Puccinia triticina* unter Freilandbedingungen konnte nur temporär ein Effekt der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit festgestellt werden. Anhand der durchgeführten Assoziationsstudie wurden signifikante Marker- Merkmalsassoziationen für die Mykorrhizierung bzw. die Trockenstresstoleranz ermittelt.

Abstract (english)

Wheat (*Triticum aestivum*) is one of the most important crops for human nutrition worldwide. Due to climate change and an increased demand for wheat, tolerance against biotic and abiotic stress is an important goal in wheat breeding, today. Besides raising stress tolerance per se, the use of mycorrhiza for improving stress tolerance is an option.

Therefore, the project aimed at the estimation of the genetic diversity of wheat with respect to root colonization by mycorrhizal fungi and its impact on yield especially under abiotic and biotic stress conditions. Based on these results molecular markers should be identified based on genome wide association studies (GWAS).

To achieve this, several greenhouse trials were conducted in 2011, 2012, 2013 and 2014. Root colonization by mycorrhizal fungi, tolerance to drought stress and phosphorous deficiency were evaluated. Furthermore, in 2012/13 and 2013/14 field trials were conducted, in order to evaluate mycorrhizal root colonization of wheat under field conditions. In addition, possible changes of the susceptibility of wheat to *Blumeria graminis* and *Puccinia triticina* after mycorrhization were determined. In parallel to the analyses of phenotypic data, genotyping using the wheat 90K iSelect chip was conducted in order to identify QTL involved in mycorrhization and tolerance to drought stress via genome wide association studies (GWAS).

Inoculation with spores of mycorrhizal fungi was successful so that on all wheat genotypes analysed mycorrhiza symbiosis was detected. *Glomus intraradices* was identified as the pre-dominant root colonizing *Glomus* species. A broad genetic diversity of wheat to generate mycorrhiza symbiosis was detected under control conditions as well as under drought stress and phosphorous deficiency conditions. The majority of genotypes showed increased yield under stress conditions after the formation of a mycorrhizal symbiosis. However, some genotypes showed reduced yield after mycorrhization and no correlation between the amount of root colonization and the increase in yield could be observed. The effect of mycorrhization on yield response was strongly affected by genotype and environment. Furthermore, also in field conditions the formation of mycorrhiza and genotypic differences could be detected. Due to environmental effects, e.g. different soil and weather conditions, root colonization was lower in field conditions in comparison to the colonization observed in the greenhouse. No significant differences of yield between the mycorrhizal and non mycorrhizal treatment could be detected in the field. Moreover, mycorrhization did not affect the susceptibility of wheat to *Blumeria graminis* and *Puccinia triticina*. Finally, genome wide association studies revealed several significant marker trait associations with respect to root colonization by mycorrhizal fungi and drought stress tolerance.

INHALTSVERZEICHNIS

ABBILDUNGSVERZEICHNIS	V
TABELLENVERZEICHNIS	VIII
I. Erfassung genetischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendophytisch wachsenden Pilzen und deren Auswirkungen auf die Stresstoleranz.....	10
1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts.....	10
1.1 Gesamtziel des Vorhabens	10
1.2 Wissenschaftliche und/ oder technische Arbeitsziele des Vorhabens	10
1.3 Planung und Ablauf des Projekts	12
2. Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde.....	13
3. Material und Methoden.....	15
3.1 Gewächshaus- und Gazezeltversuche.....	15
3.1.1 Genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit und assoziationsgenetische Untersuchungen	15
3.1.2 Einfluss der Mykorrhizierung auf die Phosphataufnahme.....	16
3.1.3 Erfassung des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit.....	17
3.1.4 Qualitativer und quantitativer Nachweis der Mykorrhizierung.....	19
3.1.5 Erfassung physiologischer/ morphologischer Merkmale und Ertragsparameter.....	19
3.1.6 Statistische Auswertung	20
3.2 Feldversuche	21
4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse.....	23
4.1 Ergebnisse Gewächshausversuche	23
4.1.1 Genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit und genomweite Assoziationsstudien ...	23
4.1.2 Einfluss der Mykorrhizierung auf die Phosphataufnahme.....	28
4.1.3 Erfassung des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit.....	36
4.2 Ergebnisse Feldversuche	37
4.2.1 Feldversuche	37
5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse	40
6. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen	40
7. Zusammenfassung.....	41
7.1 Zusammenfassung (deutsch).....	41
7.2 Abstract (english).....	42
8. Literaturverzeichnis	43
9. Übersicht über die im Berichtszeitraum realisierten Veröffentlichungen, sowie bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse	45
ANHANG	47
II. Anhang zum Schlussbericht: kurz gefasster Erfolgskontrollbericht	50

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

Abbildung 1: Effekt der Mykorrhizierung auf den mittleren Strohertrag (St), den mittleren Kornertrag (Y), die mittlere Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), das mittlere Tausendkorngewicht (TKG), die mittlere Anzahl Körner pro Ähre und die mittlere prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk) unter Trockenstress- und Normalbedingungen, gezeigt für die Behandlungskombinationen nicht mykorrhiziert/ Trockenstress (Nmyko25), nicht mykorrhiziert/ Normalbedingungen (Nmyko75), mykorrhiziert/ Trockenstress (myko25) und mykorrhiziert/ Normalbedingungen (myko75) über zwei Versuchsjahre. Mittelwerte, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha=0,05$).....	23
Abbildung 2: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Trockenstress- (A) und Normalvariante (B).....	24
Abbildung 3: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Trockenstressbedingungen. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha=0,05$).....	25
Abbildung 4: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Normalbedingungen. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha=0,05$).....	26
Abbildung 5: Manhattan plots der genomweiten $-\log_{10}$ P-Werte des Merkmals Ertrag unter Trockenstressbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte Variante (A) und mykorrhizierte Variante (B) in Abhängigkeit der chromosomalen Position der Marker. Die rote Linie markiert die Signifikanzgrenze ($p=0,001$).....	27
Abbildung 6: Manhattan plots der genomweiten $-\log_{10}$ P- Werte des Merkmals Ertrag unter Normalbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte Variante (A) und mykorrhizierte Variante (B) in Abhängigkeit der chromosomalen Position der Marker. Die rote Linie markiert die Signifikanzgrenze ($p=0,001$).....	27
Abbildung 7: Manhattan plots der genomweiten $-\log_{10}$ P- Werte des Merkmals Mykorrhizierbarkeit unter Trockenstress- (A) und Normalbedingungen (B) in Abhängigkeit der chromosomalen Position der Marker. Die rote Linie markiert die Signifikanzgrenze ($p=0,001$).....	27
Abbildung 8: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Phosphormangel- (A) und Normalvariante (B).....	28
Abbildung 9: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha=0,05$).....	30
Abbildung 10: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter optimaler Phosphorversorgung. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha=0,05$).....	31

Abbildung 11: Effekt der Mykorrhizierung auf den mittleren Strohertrag (St), den mittleren Kornertrag (Y), die mittlere Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), das mittlere Tausendkorngewicht (TKG), die mittlere Anzahl an Körnern pro Ähre und die mittlere prozentuale Besiedelung der Wurzel (Myk) unter Phosphormangelbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante, sowie für die Varianten mit einer Aufwandmenge von 1 % (1%myko) bzw. 4 % (4%myko) Mykorrhizagranulat, für das Versuchsjahr 2013/14. Mittelwerte, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha= 0,05$).....	31
Abbildung 12: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Variante mit einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat (A) und die Variante mit einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat (B) unter Phosphormangelbedingungen für das Versuchsjahr 2013/14.....	32
Abbildung 13: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2013/14. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha= 0,05$).....	32
Abbildung 14: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2013/14. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha= 0,05$).....	33
Abbildung 15: Effekt der Mykorrhizierung auf den mittleren Strohertrag (St), den mittleren Kornertrag (Y), die mittlere Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), das mittlere Tausendkorngewicht (TKG), die mittlere Anzahl an Körnern pro Ähre und die mittlere prozentuale Besiedelung der Wurzel (Myk) unter Phosphormangelbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte (Nmyko), 1 % mykorrhiziert (1%myko) und 4 % mykorrhiziert (4%myko) Variante für das Versuchsjahr 2014. Mittelwerte, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha= 0,05$).....	33
Abbildung 16: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Variante mit einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat (A) und die Variante mit einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat (B) unter Phosphormangelbedingungen für das Versuchsjahr 2014.....	34
Abbildung 17: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2014. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha= 0,05$).....	35
Abbildung 18: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2014. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha= 0,05$).....	35
Abbildung 19: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch unter Feldbedingungen über zwei Versuchsjahre.....	38

Abbildung 20: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Feldbedingungen über zwei Versuchsjahre. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).....38

TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1: Geschätzte Varianzkomponenten (genotypische Varianz, σ^2_g ; Varianz der Genotyp x Jahr Interaktion, σ^2_{gj} ; Fehlervarianz, σ^2), Heritabilität (h^2) und Standardfehler der Heritabilität ($\pm SE$) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA), Besiedlung (Myk), Besiedlung unter Trockenstressbedingungen (Myk25) und Besiedlung unter Normalbedingungen (Myk75), berechnet über zwei Versuchsjahre.....24

Tabelle 2: Geschätzte Varianzkomponenten (genotypische Varianz, σ^2_g ; Varianz der Genotyp x Jahr Interaktion, σ^2_{gj} ; Fehlervarianz, σ^2), Heritabilität (h^2) und Standardfehler der Heritabilität ($\pm SE$) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA), Besiedlung (Myk), Besiedlung unter Phosphormangelbedingungen (Myk-P) und Besiedlung unter optimaler Phosphorversorgung (Myk+P), berechnet über zwei Versuchsjahre.....29

Tabelle 3: Mittelwerte (Mittel) und Standardfehler ($\pm SE$) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA) und prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk), dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante unter Phosphormangelbedingungen (-P). Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha= 0,05$).....30

Tabelle 4: Mittelwerte (Mittel) und Standardfehler ($\pm SE$) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA) und prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk), dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante unter optimaler Phosphorversorgung (+P). Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha= 0,05$).....30

Tabelle 5: Mittelwerte für die Anzahl der Pflanzenzellen mit Abwehrreaktionen 72 h nach künstlicher Inokulation mit *Blumeria graminis* und die prozentual befallene Blattfläche zwei (Bonitur 1) und vier (Bonitur 2) Wochen nach künstlicher Inokulation mit *Blumeria graminis*, dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante der 30 untersuchten Weizengenotypen. Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha= 0,05$).....36

Tabelle 6: Mittelwerte für die Anzahl von Infektionsorten mit mehr als 50 Haustorienmutterzellen (HMZ>50) bzw. Kolonien (Kolonien) pro cm^2 Blattfläche 240 Stunden nach künstlicher Inokulation mit *Puccinia triticina* und Prozent befallene Blattfläche vier (Bonitur) Wochen nach künstlicher Inokulation mit *Puccinia triticina* dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante der 17 symptomtragenden Weizengenotypen. Genotypen des verwendeten Sets, die keine Symptome zeigten wurden nicht für die statistische Verrechnung heangezogen. Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha= 0,05$).....37

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichung für die Merkmale Kornertrag (Y), Tausendkorngewicht (TKG) und prozentuale Wurzelbesiedlung (Myk) dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante der 45 untersuchten Weizengenotypen. Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha = 0,05$).....39

I. Erfassung genetischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendophytisch wachsenden Pilzen und deren Auswirkungen auf die Stresstoleranz

Das Projekt „Erfassung genetischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendophytisch wachsenden Pilzen und deren Auswirkungen auf die Stresstoleranz“ wurde durch das Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) bearbeitet und durch das Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft (BMEL) im Zeitraum von Juli 2011 bis November 2014 unter der Projektnummer 2810OE078 gefördert.

1. Ziele und Aufgabenstellung des Projekts

1.1 Gesamtziel des Vorhabens

Das Ziel des Vorhabens war es genetische Unterschiede des Brotweizens (*Triticum aestivum*) bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendophytisch wachsenden Pilzen durch die Phänotypisierung von Weizensorten, die im ökologischen Anbau von Bedeutung sind, Weizensorten aus der Beschreibenden Sortenliste und Akzessionen aus Genbanken, zu ermitteln, um damit die Grundlagen zu schaffen, entsprechende Unterschiede zukünftig züchterisch nutzbar zu machen. Desweiteren sollten die Auswirkungen der Mykorrhizierung auf die Biomasse- und Kornertragsbildung unter biotischen und abiotischen Stressbedingungen, wie Pathogenbefall, Trockenstress oder Phosphormangel, welche verstärkt unter ökologischen Produktionsbedingungen auftreten, sowie entsprechende Wechselwirkungen erfasst werden.

1.2 Wissenschaftliche und/ oder technische Arbeitsziele des Vorhabens

Weizen ist neben Mais (*Zea mays*) und Reis (*Oryza sativa*) eine der bedeutendsten Kulturpflanzen für die menschliche Ernährung. Die Notwendigkeit sowohl unter veränderten Klimabedingungen mit häufiger und stärker auftretenden Trocken- und Hitzestresssituationen, einhergehend mit Nährstoffmangel aufgrund verringerter Verfügbarkeit, als auch auf Grenzstandorten langfristig stabile Erträge zu sichern, führt im konventionellen und insbesondere im ökologischen Landbau zu einem Bedarf an neuen Weizengenotypen und Verfahren, welche eine verbesserte Toleranz gegenüber biotischen und abiotischen Stresssituationen aufweisen. Die Identifikation und nachfolgende züchterische Bearbeitung von Weizengenotypen, welche eine Symbiose mit Endomykorrhizapilzen eingehen und diese effektiv unter biotischem und abiotischem Stress nutzen, kann einen neuen Ansatz zur Verbesserung der Stresstoleranz des Weizens darstellen und somit langfristig zu neuen,

verbesserten Sorten führen, welche zur Ertragsstabilität oder sogar -steigerung unter ungünstigen Produktionsbedingungen beitragen.

Die wissenschaftlichen Ziele des Gesamtvorhabens lassen sich daher wie folgt definieren:

(A) Identifikation genotypischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit Mykorrhizapilzen.

(B) Identifikation von Quantitative trait loci (QTL), die mit der Mykorrhizierung und Trockenstresstoleranz im Zusammenhang stehen, mittels genomweiter Assoziationsstudien.

(C) Identifikation von Genotypen, welche die Mykorrhizierung unter Stressbedingungen am effektivsten nutzen können.

Um die den wissenschaftlichen Zielen zugrundeliegenden, komplexen Fragestellungen zu bearbeiten, wurden fünf Arbeitspakete definiert, die sich mit nachstehenden Teilzielen befassen:

(1) AP1: Genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit

Ziel dieses Arbeitspakets war es, genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit von Weizengenotypen sowie die Auswirkungen einer Mykorrhizierung unter Trockenstressbedingungen zu erfassen und den Einfluss der Mykorrhizierung auf den Ertrag und die Ertragsparameter unter Gewächshausbedingungen zu ermitteln. Ferner sollte festgestellt werden, ob die Intensität der Mykorrhizierung in direktem Zusammenhang mit gesteigerter bzw. reduzierter Biomasse- oder Kornertragsbildung steht.

(2) AP2: Einfluss der Mykorrhizierung auf die Phosphoraufnahme.

In diesem Arbeitspaket sollten Erkenntnisse darüber gewonnen werden, inwieweit Unterschiede in der Mykorrhizierung von Weizengenotypen unter Phosphormangelbedingungen (-P) und optimaler Phosphorversorgung (+P) bestehen, genotypische Unterschiede in der Besiedlung durch Mykorrhizapilze auftreten und ob sich diese positiv auf ertragsrelevante Merkmale unter Gewächshausbedingungen auswirken. Zudem sollte ermittelt werden, ob es einen Zusammenhang zwischen der Intensität der Besiedlung und gesteigerter bzw. reduzierter Biomasse- oder Kornertragsbildung, sowie der Nährstoffsituation der Pflanzen gibt.

Aufgrund der Ergebnisse des ersten Versuchsjahres wurde die Fragestellung dahingehend erweitert, inwiefern Umweltbedingungen und die Konzentration des verwendeten Mykorrhizagranulates einen Einfluss auf die Mykorrhizierung der Genotypen, sowie die Biomasse- und Kornertragsausbildung haben. Teilziel dieser Versuche war es, die durch die vorangegangenen Versuche auftretenden Fragen bezüglich des Zusammenhanges von Mykorrhizierung, Ertragsbildung und Umwelt unter Phosphormangelbedingungen detaillierter zu untersuchen und somit gewonnene Ergebnisse besser interpretieren und in einen größeren Zusammenhang stellen zu können.

(3) AP3: Erfassung des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit.

Hauptziel dieses Arbeitspaketes war die Beantwortung der Frage, inwiefern sich die Mykorrhizierung der Pflanzenwurzel auf die Krankheitsanfälligkeit der Weizengenotypen gegenüber verschiedenen Blattpathogenen unter Freilandbedingungen auswirkt.

(4) AP4: Feldversuche

Parallel zur Durchführung von Gewächshausversuchen zu obengenannten Fragestellungen sollte anhand dieses Arbeitspaketes geklärt werden, inwieweit eine Besiedlung der Weizenwurzel mit Mykorrhizapilzen unter Feldbedingungen möglich ist, genotypische Unterschiede in der Besiedlung auftreten und die Möglichkeit der Nutzung der Mykorrhizierung von Weizensorten im Feldmaßstab besteht. Desweiteren sollte auch hier erfasst werden, ob ein Zusammenhang zwischen Intensität der Besiedlung und gesteigerter bzw. reduzierter Kornertragsbildung vorliegt.

(5) AP5: Assoziationsgenetische Untersuchungen.

Anhand der unter den obengenannten Arbeitspaketen erfassten phänotypischen Daten und der mittels des 90k Weizenchips gewonnen genotypischen Daten sollte eine genomweite Assoziationsstudie (GWAS), mit dem Ziel der Identifikation von QTL, welche an der Mykorrhizierbarkeit und Trockenstresstoleranz beteiligt sind, durchgeführt werden.

1.3 Planung und Ablauf des Projekts

Die geplanten Versuche wurden gemäß des im Projektantrags aufgestellten Arbeitsplans durchgeführt, wobei jedoch darauf hinzuweisen ist, dass der durch Hagel verursachte Schaden am Gewächshaus in Quedlinburg im Jahr 2011 zu einer verzögerten Anlage des 2011 angelegten Trockenstressversuches führte. In Folge der nicht zeitplangemäßen Anlage des ersten Trockenstressversuches 2011 kam es insgesamt zu einer verzögerten Anlage aller Folgeversuche bezüglich Trockenstresstoleranz und Phosphormangeltoleranz, da für diese Versuche nur eine begrenzte Gewächshauskapazität zur Verfügung stand. Durch die Verzögerung im Arbeitsplan wurden die Versuche wie folgt bearbeitet: Die Versuche zur Mykorrhizierung und Trockenstresstoleranz wurden im Jahr 2011 begonnen und konnten im Jahr 2014 abgeschlossen werden. Die Durchführung der Versuche zur Mykorrhizierung und Phosphormangeltoleranz erfolgte in den Jahren 2012/13 und 2013/14 über das Winterhalbjahr. Die weiterführenden Versuche zur Phosphormangeltoleranz bezüglich verschiedener Aufwandmengen an Mykorrhizagranulat wurden zum Einen parallel zum Phosphorversuch im Jahr 2013/14, sowie zum Anderen parallel zum Trockenstressversuch im Jahr 2014 durchgeführt. Weiterhin konnte der 2011 zur Überprüfung der Mehltauanfälligkeit angelegte Versuch nicht hinreichend ausgewertet werden, da die Pflanzen durch den Hagel vollständig zerstört wurden. Da keine aussagekräftigen Ergebnisse vorlagen, wurde dieser Versuch in 2013, zusammen mit dem geplanten Versuch zur Braunrostanfälligkeit, wiederholt. Die Anlage der Feldversuche erfolgte planmäßig in den Jahren 2012 und 2013 am Standort Groß Lüsewitz und 2013 am Standort Neu Darchau. Entgegen des Arbeitsplanes wurde mit den assoziationsgenetischen Untersuchungen nicht

in 2012, sondern erst in 2013 begonnen, da auf die Markteinführung des 90k SNP-Chip der Firma Illumina Inc. (San Diego, USA) zu Beginn des Jahres 2013 gewartet wurde.

2. Wissenschaftlicher Stand, an den angeknüpft wurde

Veränderte Wachstumsbedingungen aufgrund des prognostizierten Klimawandels stellen die Weizenzüchtung vor neue Aufgaben. Es werden neue Sorten benötigt, die an die veränderten Klimabedingungen in Form von fröhsommerlicher Trockenheit einhergehend mit geringer Nährstoffverfügbarkeit, sowie an niederschlagsreiche Sommer, die zu einem erhöhten Aufkommen pilzlicher Schaderreger führen, angepasst sind. Die zurzeit effektivste Methode zur Verbesserung der abiotischen und biotischen Stresstoleranz von Weizen ist die Züchtung stresstoleranter Sorten. Ein neuer Ansatz zur Verbesserung der Stresstoleranz von Weizen insbesondere im Bereich des ökologischen Landbaus könnte jedoch die Züchtung von Weizensorten sein, die effektiv Mykorrhizasymbiosen unter abiotischen und biotischen Stressbedingungen nutzen können, um konstante oder sogar gesteigerte Erträge zu erzielen.

Der Begriff Mykorrhizasymbiose beschreibt eine Assoziation zwischen Pflanzen und spezialisierten Bodenpilzen, von der sowohl Phytobiont als auch der Mykobiont profitieren (Parniske, 2008). Ca. 80 % der Landpflanzen sind in der Lage, diese Art von Symbiosen einzugehen (Smith and Read, 1997). Es werden zwei große Gruppen unterschieden, die Ektomykorrhiza- und die Endomykorrhizapilze. Nur vesikuläre, arbuskuläre Endomykorrhizapilze wie beispielsweise *Glomeromycota* können Symbiosen mit Weizen eingehen. Infolge der Besiedlung der Pflanzenwurzel durch diese endosymbiontisch wachsenden Pilze werden typische Mykorrhizastrukturen wie Vesikel, Sporen und Arbuskel gebildet (Parniske, 2008). Positive Effekte der Mykorrhizierung sind hinsichtlich der Trocken- und Salztoleranz (Al-Karaki et al., 2004, Daei et al., 2009), Phosphatmangeltoleranz (Manske, 1990) und Pathogentoleranz (Gernns et al., 2001) bei Weizen und Gerste beschrieben.

Der Anbau von Weizen auf Grenzstandorten führt häufig zu Trockenstress in Verbindung mit Nährstoffmangelsituationen. Al-Karaki et al. (2004) wiesen bei trockenstresssensitiven Sorten durch die Mykorrhizierung der Wurzeln eine Erhöhung des Ertrages von 31,5 % unter Wassermangelbedingungen und von 20 % bei moderater Wasserversorgung im Vergleich zu der nicht mykorrhizierten Variante nach. Diese positiven Effekte konnten auch bei stresstoleranten Sorten festgestellt werden. Verantwortlich für die verbesserte Widerstandsfähigkeit gegenüber abiotischem und biotischem Stress ist die verbesserte Versorgung mit schwerlöslichen Nährstoffen, insbesondere Phosphor (Li et al., 2008) Dieser Makronährstoff ist auf Grund von Trockenheit und ungünstigem pH-Wert im Boden an Grenzstandorten nur begrenzt für die Pflanze verfügbar (Judel et al., 1985, Arcand and Schneider, 2006, Ticconi and Abel, 2004). Die um die Wurzel entstehende Phosphormangelzone kann durch die Hyphen der Mykorrhizapilze überwunden werden (Hause and Fester, 2005, Parniske, 2008). Manske (1990), Baon et al. (1993) und Zhu et al. (2001) beobachteten, dass Unterschiede in der Fähigkeit von Weizen- und Gerstensorten Mehrerträge unter Phosphormangel zu realisieren, nach Symbiose mit einer vesikulär- arbuskulären Mykorrhiza (VAM) auftraten. Manske (1990) verglich dabei Landrassen mit modernen Sorten, Zhu et al. (2001) vor 1950 zugelassene Sorten mit modernen Sorten. Es konnte ein Zusammenhang zwischen der Phosphoraufnahmefähigkeit und Wachstumsverbesserungen nach einer Mykorrhizierung moderner Sorten und alter Sorten bzw. Landrassen festgestellt werden.

Hetrick et al. (1992) lieferten Hinweise auf die genotypische Determinierung der Wurzelmykorrhizierung und daraus resultierenden positiven Effekten auf die Trockenmasseentwicklung. Sie konnten einen Trockenmassezuwachs von +49,6 % bis zu +334 % bei aus Asien stammenden hexaploiden *Triticum aestivum* Landrassen nach Inokulation mit *Glomeromycota* nachweisen. Die Mykorrhizierung moderner und alter Weizensorten zeigte eine Zunahme der Trockenmasse von +0,9 bis +100 % bei den 13 untersuchten modernen Sorten, sowie einen Trockenmassezuwachs von +29,5 bis +68,8 % bei den alten Weizensorten. Hetrick et al. (1992) konnten desweiteren darstellen, dass die unterschiedlichen Wachstumsreaktionen der Pflanzen nach Mykorrhizierung negativ mit dem Rohfasergehalt der Pflanzenwurzeln korreliert waren ($r = 0,719$). Zudem stellten Friedel et al. (2008) im Bereich des ökologischen Landbaus sortenabhängige Unterschiede in der Mykorrhizierung fest, wobei die Mykorrhizierung in weit höherem Maße standortabhängig war. Insbesondere der pH-Wert des Bodens spielte hierbei eine Rolle. Es wurde zudem keine künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen durchgeführt. Bisher erfolgte jedoch keine züchterische Bearbeitung des Weizens im Hinblick auf eine Verbesserung der Fähigkeit eine Symbiose mit Mykorrhizapilzen einzugehen und damit die Trockenstresstoleranz und das Phosphoraneignungsvermögen zu verbessern. Toth et al. (1990) berichten, dass durch die Selektion von Sorten mit qualitativer Resistenz gegenüber pilzlichen Erregern die Mykorrhizierbarkeit verringert wird.

Die Inokulation mit *Glomeromycota* ist technisch erprobt und findet kommerziell zum einen durch Granulate, die in den Boden eingearbeitet werden (Omar, 1998), zum Anderen durch direkte Beizung des Saatgutes mit zerkleinerten sporenhaltenden Granulaten statt (Watzke, 2006). Vermiculit, Lava, Blähton, Torf oder Sand dienen bei den bekannten Granulaten als Trägermaterial für die Sporen und machen so eine Nutzung im Feldmaßstab möglich. Die Granulate werden durch mehrere Firmen hergestellt und vertrieben, die sich bisher auf Rekultivierung und in diesem Zusammenhang vor allem auf den Garten- und Landschaftsbaubereich beschränkten. Im Sinne der Düngemittelverordnung gelten die Granulate als Bodenhilfsstoffe, die gemäß der EG-Öko-Durchführungs-VO 889/2008 Art. 3 (4) im Ökolandbau zugelassen sind (<http://www.inoq.de/produkte/produkte-profi-anwender.html>), bzw. als Betriebsmittel im ökologischen Landbau verwendet werden dürfen. Die zugelassenen Produkte sind in der Betriebsmittelliste des Forschungsinstitutes für den ökologischen Landbau (FiBL Betriebsmittelliste) aufgeführt.

Weizen wurde noch nicht züchterisch im Hinblick auf eine verbesserte Mykorrhizierbarkeit bearbeitet. Zurzeit sind nur vereinzelte Publikationen bezüglich der Etablierung von Mykorrhizasymbiosen an Weizen und deren Effekt auf Wachstums- oder Ertragsparameter unter Stressbedingungen bekannt, in denen zumeist nur einzelne oder wenige Sorten untersucht wurden.

3. Material und Methoden

3.1 Gewächshaus- und Gazezeltversuche

3.1.1 Genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit und assoziationsgenetische Untersuchungen

Pflanzenmaterial

Zur Beurteilung der Mykorrhizierbarkeit und Trockenstresstoleranz von Weizen unter Gewächshausbedingungen wurde ein Set aus 103 Weizengenotypen aus verschiedenen Teilen der Erde und aus verschiedenen Zulassungsjahren verwendet (Anhang 1).

Das Set beinhaltete:

- (i) aktuell im Anbau befindliche Sorten, die in der Bundessortenliste gelistet sind (26),
- (ii) Sorten, die zwischen 1960 und 2000 in Deutschland zugelassen waren (16),
- (iii) Sorten, die gemäß des Bundessortenamtes für den ökologischen Anbau geeignet sind (3),
- (iv) Sorten bzw. Genotypen der Saatzucht Darzau, welche ebenfalls für den ökologischen Anbau geeignet sind (5),
- (v) alten Sorten, die vor 1950 in Deutschland angebaut wurden (17) und
- (vi) exotisches Material, welches sich aus Weizensorten weltweiter Herkunft zusammensetzt (36).

Bei den verwendeten Genotypen handelte es sich um nicht vorselektiertes Material, sodass keine Angaben bezüglich der Mykorrhizierbarkeit und zur Reaktion auf Trockenstress vorlagen. Einzig für die Genotypen Ludwig, Kanzler und Sandomir war aus der Literatur bekannt (Friedel et al., 2008, Hetrick et al., 1992, Hildermann et al., 2008), dass diese erfolgreich durch Mykorrhizapilze besiedelt werden können.

Künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen

Für die Etablierung der Mykorrhizierung wurde ein Sand-Sporengemisch (Sprint, INOQ GmbH, Schnega), bestehend aus den Arten *Glomus claroideum*, *Glomus etunicatum* und *Glomus intraradices* verwendet. Die nicht mykorrhizierte Variante wurde mit autoklaviertem, also inaktiviertem Sand-Sporengemisch behandelt, um Düngeneffekte des Trägermaterials ausschließen zu können. Das Mykorrhizagranulat bzw. das inaktivierte Granulat wurde in einer Aufwandmenge von 4 % Gewichtsanteil dem für die Versuche verwendeten, nährstoffarmen Boden (Archut Fruhstorfer Erde Typ Null, HAWITA Gruppe GmbH, Vechta) beigemischt.

Versuchsanlage und Versuchsdesign

Zur Ermittlung genotypischer Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit des Weizens und des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Trockenstresstoleranz dieser Genotypen, wurde ein Topfversuch mit den

Varianten mykorrhiziert und nicht mykorrhiziert unter Trockenstress- (Maximal Wasserkapazität, MWK 25 %) und Normalbedingungen (MWK 75 %), in dreifacher Wiederholung in den Versuchsjahren 2011/12, 2013 und 2014, angelegt. Als Versuchsdesign wurde eine Spalt-Streifenanlage gewählt, um der dreifaktoriellen Fragestellung (Genotyp, Bewässerung, Mykorrhizierung) des Versuches gerecht zu werden. Das Saatgut der verwendeten Genotypen wurde vor Anlage des Versuches vorgekeimt und zur Vernalisation in Pflanzschalen pikiert. Die Vernalisation erfolgte in Klimakammern bei 4° C, sowie einem Tag- Nachtrhythmus von 16:8 Stunden, über einen Zeitraum von 8 Wochen. Nach der Vernalisation wurden je vier Pflanzen eines Genotyps in einen Rosentopf (25,5 cm Tiefe, Durchmesser 20 cm), mit je nach Behandlung inokuliertem oder nicht inokuliertem Boden, pikiert. Die Bewässerung erfolgte zweitägig nach Bestimmung des Topfgewichtes auf die entsprechende Wasserkapazität. Trockenstressbedingungen (MWK 25 %) wurden erstmals im BBCH-Stadium 41-43 in der Trockenstressvariante induziert, sodass fröhsummerliche Trockenheit zur Blüte simuliert werden konnte. In der Kontrollvariante ohne Trockenstressinduktion wurde eine MWK von 75 % über die gesamte Vegetationsperiode beibehalten. Die Trockenstressbehandlung wurde bis zur Abreife (BBCH 9) des Versuches aufrecht erhalten. Die Düngung erfolgte angepasst nach dem Protokoll von (Zhu and Smith, 2001). Grunddüngung und erste Stickstoffgabe (N-Gabe) wurden zur Anlage des Versuches durchgeführt. Die zweite und dritte N-Gabe folgten zum Ende der Bestockung (BBCH 26-29) und zum Ährenschieben (BBCH 41-43). Die Kultivierung der Pflanzen wurde unter dem jeweiligen Entwicklungsstadium angepassten Temperaturen und einem Tag- Nachtrhythmus von 16:8 Stunden durchgeführt.

Durchführung der genomweiten Assoziationsstudie (GWAS)

Aus Blattmaterial der 103 Genotypen wurde wie von Stein et al. (2001) beschrieben genomische DNA extrahiert. DNA von 94 Genotypen konnte anschließend für die Genotypisierung mittels 90k iSelect Chip (Illumina Inc., San Diego USA) durch die Firma Trait Genetics (Gatersleben, Deutschland) genutzt werden. Anhand der phänotypischen Daten der Versuchsjahre 2013 und 2014 sowie der genotypischen Daten konnte eine Assoziationsstudie unter Verwendung des Statistikpaket SAS 9.3 (SAS Institute, Cary, NC USA, 2014) durchgeführt werden. Markerdaten mit mehr als 5 % Fehlstellen bzw. einer Allelfrequenz kleiner 5 % wurden von der Berechnung ausgenommen. Der Programmcode zur Durchführung der Assoziationsstudie wurde von der Universität Halle (Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften, Professur für Pflanzenzüchtung, Prof. Dr. Pillen und A. Maurer) freundlicherweise zur Verfügung gestellt.

3.1.2 Einfluss der Mykorrhizierung auf die Phosphataufnahme

Pflanzenmaterial

Zur Beurteilung der Mykorrhizierbarkeit und Phosphormangeltoleranz von Weizen unter Gewächshaubedingungen wurde ein Subset des in 3.1.1 beschriebenen Genotypensets, bestehend aus 30 stark divergierenden Weizengenotypen in den Versuchsjahren 2012/13 und 2013/14 verwendet (Anhang 1). Bei den verwendeten Genotypen handelte es sich um nicht vorselektiertes Material, sodass keine Angaben bezüglich Mykorrhizierbarkeit und Phosphormangeltoleranz vorlagen. Für die 2013/14 und 2014 zusätzlich angelegten Versuche zur Beurteilung der Mykorrhizierbarkeit und

Phosphormangeltoleranz von Weizen unter der Berücksichtigung verschiedener Konzentration des Mykorrhizagranulats, wurde ein Subset aus 20 Genotypen verwendet (Anhang 1).

Künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen

Die künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen erfolgte für den Versuch zur Mykorrhizierung und Phosphormangeltoleranz wie unter 3.1.2 beschrieben. Für die zusätzlich angelegten Phosphorversuche wurde das Mykorrhizagranulat in einer Aufwandmenge von 4 % (4% Variante), sowie einer reduzierten Aufwandmenge von 1 % (1 % Variante) dem für die Versuche verwendeten, nährstoffarmen Boden, beigemischt. Dem Boden der nicht mykorrhizierten Kontrolle wurde inaktiviertes Granulat in einer Aufwandmenge von 4 % zugegeben.

Versuchsanlage und Versuchsdesign

Wie auch für die Trockenstressversuche wurde für alle Phosphorversuche nährstoffarmer Boden mit weniger als 4 mg P/ kg Boden verwendet, sodass dieser ungedüngt als Mangelvariante (-P) bzw. gedüngt als Optimalvariante (+P) genutzt werden konnte. Ausgehend davon wurde in den Versuchsjahren 2012/13 und 2013/14 unter Gewächshausbedingungen ein Topfversuch mit den Varianten mykorrhiziert und nicht mykorrhiziert, unter Phosphormangelbedingungen (< 4 mg P/ kg Boden, -P) und optimaler Phosphorversorgung (114 mg P/ kg Boden, +P) in drei Wiederholungen angelegt. Der Versuch wurde als Spalt-Streifenanlage geplant, um der dreifaktoriellen Fragestellung (Genotyp, Phosphorversorgung, Mykorrhizierung) gerecht zu werden. Wie unter 3.1.1 beschrieben, erfolgte vor Versuchsbeginn eine Vernalisation der Pflanzen. Es wurden vier Pflanzen je Topf pikiert. Die Bewässerung erfolgte mittels Tröpfchenbewässerung, wobei eine MWK von 75 % bis 80 % über die gesamte Versuchsdauer angestrebt wurde. Die Düngung wurde nach dem Protokoll von (Zhu and Smith, 2001) durchgeführt, wobei die Phosphordüngung an die Phosphorvarianten angepasst wurde. Die Phosphordüngung erfolgte zusammen mit der Grunddüngung zur Anlage des Versuches, sodass der Phosphormangel schon zu Versuchsbeginn induziert werden konnte. Die Pflanzen wurden unter den dem jeweiligen Entwicklungsstadium angepassten Temperaturen und einem Tag- Nachtrythmus von 16:8 Stunden durchgeführt.

Die zusätzlichen Versuche bezüglich verschiedener Aufwandmengen des Mykorrhizagranulates wurden ebenfalls als Spalt-Streifenanlage geplant und als Topfversuche unter Gewächshausbedingungen angelegt. Aufgrund mangelnder Verfügbarkeit von Saatgut einiger Genotypen konnten nur 20 Genotypen in je 2 Wiederholungen angelegt werden. Im Versuchszeitraum 2013/14 und 2014 wurde der Versuch mit den Varianten mykorrhiziert 1 %, mykorrhiziert 4 % und nicht mykorrhiziert unter Phosphormangelbedingungen angelegt. Die Bewässerung, Düngung und Kultivierung der Pflanzen erfolgte wie oben beschrieben.

3.1.3 Erfassung des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit

Pflanzenmaterial

Zur Beurteilung des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit von Weizen unter Freilandbedingungen im Gazezelt wurde dasselbe Subset, wie unter 3.1.2 beschrieben, verwendet

(Anhang 1). Bei den verwendeten Genotypen handelte es sich um nicht vorselektiertes Material, sodass keine Angaben bezüglich Mykorrhizierbarkeit vorlagen. Jedoch standen für einige der verwendeten Genotypen Angaben über das Vorhandensein von Resistenzgenen gegenüber *Puccinia triticina* zur Verfügung (Anhang 2).

Künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen

Die künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen erfolgte wie unter 3.1.1 beschrieben.

Versuchsanlage und Versuchsdesign

Es wurde im Versuchsjahr 2013 je ein Topfversuch unter Freilandbedingungen zur Erfassung der Anfälligkeit von Weizen, gegenüber *Blumeria graminis* dem Erreger des Echten Mehltaus an Weizen und *Puccinia triticina* dem Erreger des Braunrostes an Weizen, in einer mykorrhizierten und einer nicht mykorrhizierten Variante in drei Wiederholungen angelegt. Es wurden vier Pflanzen je Topf pikiert. Die Bewässerung erfolgte durch Tröpfchenbewässerung, wobei eine MWK zwischen 75 % und 80 % über die gesamte Vegetationsperiode angestrebt wurde. Die Vernalisation und Düngung wurde, wie unter 3.1.1 erläutert, durchgeführt.

*Künstliche Inokulation mit *Blumeria graminis* und *Puccinia triticina**

Die Inokulation mit Sporen von *B. graminis* bzw. *P. triticina* (Isolat Wxr77) wurde am 10. Juni 2013 (BBCH 3 bis BBCH 4; Schossen bis Ährenscheiden) bzw. am 14. Juni 2013 (BBCH 3 bis BBCH 4; Schossen bis Ährenscheiden) an den jeweils jüngsten vollentwickelten Blättern durchgeführt. Die Inokulation mit *B. graminis* erfolgte mittels "brushing", indem mit Sporenlagern des Mehltaus besiedelte Blätter anfälliger Pflanzen (Sorte Kanzler) zur Inokulation der jeweils jüngsten vollentwickelten Blätter mit Sporen genutzt wurden (Hovhannisyán et al., 2011). Die Inokulation mit *P. triticina* erfolgte als Sprühinokulation, indem die zu inokulierenden Blätter zunächst mit einer 0,1 % - igen Tween®- Lösung benetzt wurden und anschließend mittels Zerstäuber die Sporen aufgebracht wurden (McIntosh, 1995).

Bonitur des Krankheitsbefalls

72 Stunden (72 h) bzw. 144 h und 240 h nach der Inokulation wurden Blattproben der inokulierten Blätter genommen und der Befall mit *B. graminis* bzw. *P. triticina* nach einer Anfärbung mit Calcoflour (Diagne et al., 2011) mikroskopisch anhand der Abwehrreaktion um die Infektionsstelle bzw. der vorhandenen Infektionsstrukturen ermittelt. Zwei und vier Wochen bzw. ausschließlich vier Wochen nach der Inokulation erfolgte eine makroskopische Bonitur der befallenen Blattfläche der Pflanzen nach den Boniturschemen von Moll (2010).

3.1.4 Qualitativer und quantitativer Nachweis der Mykorrhizierung

Der qualitative Nachweis der Mykorrhizierung erfolgte mittels DNA-Extraktion aus Wurzelmaterial (Stein et al., 2001) und anschließenden PCR-Analysen unter Verwendung von mykorrhiza-spezifischen Primern (Janouskova et al., 2011). Die Quantifizierung der prozentualen Besiedlung der Wurzel durch Mykorrhizapilze wurde mikroskopisch, mittels der „magnified intersection method“ nach McGonigle et al. (1990) durchgeführt. Dafür wurden die Wurzeln zuvor mit Essigsäure-Tinten-Lösung nach dem Protokoll von Vierheilig et al. (1998) gefärbt, um typische Mykorrhizastrukturen, wie Vesikel, Sporen und Hyphen sichtbar zu machen.

3.1.5 Erfassung physiologischer/ morphologischer Merkmale und Ertragsparameter

Die Anzahl der Tage vom Auspflanzen bis zum Ährenschieben (BBCH 5) bzw. bis zur Blüte (BBCH 65) wurde für jeden Topf einzeln erfasst. Der Tag des Ährenschiebens bzw. der Blüte wurde definiert als Zeitpunkt an dem mindestens 50 % der Pflanzen im Topf das jeweilige Entwicklungsstadium erreicht hatten. Nach der Abreife der Pflanzen wurde die Wuchshöhe in cm bestimmt, Stroh und Ähren separat geerntet, die Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze erfasst, sowie Stroh und Ähren für 24 h bei 105° C bzw. 30° C getrocknet. Danach wurde der Strohertrag, Kornertrag und Ertragsparameter (Tausendkorngewicht, Körner pro Ähre), erfasst. Die Berechnung der Anzahl Körner pro Ähre erfolgte nach folgender Formel:

$$\text{Körner pro Ähre} = [Y / (\text{TKG}/1000)] / \text{AH}$$

Wobei:

Y	den Ertrag
TKG	das Tausendkorngewicht
AH	die Anzahl ährentragender Halme

darstellt.

Um Korrelationen zwischen der prozentualen Wurzelbesiedlung und dem Ertrag ermitteln zu können, wurde der Relativertrag unter Stress- und Normalbedingungen nach folgender Formel berechnet:

$$\text{Relativertrag (\%)} = (Y_{\text{myko}} / Y_{\text{nmyko}}) * 100$$

Wobei:

Y _{myko}	den Ertrag der mykorrhizierten Variante
Y _{nmyko}	den Ertrag der nicht mykorrhizierten Variante

darstellt.

3.1.6 Statistische Auswertung

Alle statistischen Auswertungen wurden mit dem Statistikpaket SAS durchgeführt. Für die Schätzung der Gesamtmittelwerte je Faktorkombination und die Mittelwertvergleiche (mykorrhiziert 25 % MWK, mykorrhiziert 75 % MWK, nicht mykorrhiziert 25 % MWK, nicht mykorrhiziert 75 % MWK bzw. mykorrhiziert –P, mykorrhiziert +P, nicht mykorrhiziert –P, nicht mykorrhiziert +P bzw. mykorrhiziert, nicht mykorrhiziert), sowie die Schätzung der Mittelwerte je Genotyp innerhalb einer Faktorkombination (Zeitpunkt Ährenschieben, Wuchshöhe, Strohertrag, Ertrag, Tausendkorngewicht, Körner pro Ähre, ährentragende Halme, Krankheitsanfälligkeit, Wurzelbesiedlung und Mycorrhizal dependency) wurde die Prozedur PROC MIXED verwendet. Multiple Mittelwertvergleiche zwischen den Genotypen für das Merkmale Mycorrhizal dependency (MD) wurden ebenfalls mit der Prozedur PROC MIXED, anhand eines LSD-Tests ($\alpha=0,05$) durchgeführt. Die Mycorrhizal dependency (MD %) gibt an, wie abhängig ein Genotyp von der Mykorrhizierung unter bestimmten Umweltbedingungen ist und wurde nach folgender Formel (Plenchette et al., 1983) berechnet:

$$\text{MD (\%)} = [(Y_{\text{myko}} - Y_{\text{nmyko}}) / Y_{\text{myko}}] * 100$$

Wobei:

Y_{myko} den Ertrag der mykorrhizierten Variante

Y_{nmyko} den Ertrag der nicht mykorrhizierte Variante

darstellt.

Die Varianzkomponenten für jedes Merkmal wurden ebenfalls über die Prozedur PROC MIXED geschätzt, um daraus die Heritabilität wie folgt zu berechnen:

$$h^2 = \sigma_g^2 / (\sigma_g^2 + \sigma_{gj}^2 / J + \sigma^2 / JR)$$

Wobei:

σ_g^2 die genotypische Varianz

σ_{gj}^2 die Varianz der Genotyp x Jahr Interaktion

σ^2 die Fehlervarianz

J die Anzahl der Jahre

R die Anzahl der Wiederholungen.

darstellt.

Für die Berechnung der Heritabilität und des Standardfehlers der Heritabilität wurde das SAS-Makro von (Holland et al., 2003) verwendet.

Phänotypische Korrelationen (nach Pearson) zwischen Merkmalen eines Versuches wurden mit Hilfe der SAS Prozedur PROC CORR geschätzt.

3.2 Feldversuche

Pflanzenmaterial

Zur Beurteilung der Mykorrhizierbarkeit von Weizen unter Freilandbedingungen wurde ein Subset des in 3.1.1 beschriebenen Genotypensets, bestehend aus 45 Weizengenotypen, verwendet (Anhang 1).

Versuchsanlage und Versuchsdesign

Die Feldversuche wurden an den Standorten Groß Lüsewitz (30 m über NN, durchschnittliche Niederschlagsmenge 686 mm, Durchschnittstemperatur 8,3° C) und Neu Darchau (18 m über NN, durchschnittliche Niederschlagsmenge 698,6 mm, Durchschnittstemperatur 8,9° C,) in den Vegetationsperioden 2012/13 und 2013/14 bzw. 2013/14 durchgeführt. Als Versuchsdesign wurde eine zweifaktorielle Spaltanlage (Genotyp, Mykorrhizierung) mit drei Wiederholungen je Variante (mykorrhiziert, nicht mykorrhiziert) verwendet und innerhalb der Wiederholungen der mykorrhizierten und nicht mykorrhizierten Variante vollständig randomisiert. Am Standort Neu Darchau konnte versuchstechnisch bedingt keine zweifaktorielle Spaltanlage realisiert werden, sodass der Versuch als ein mykorrhizierter und ein nicht mykorrhizierter Block mit je drei Wiederholungen angelegt werden musste. Die Parzellengröße betrug im Versuchsjahr 2012/13 aufgrund von Saatgutknappheit einiger Genotypen 4 m². Im Versuchsjahr 2013/14 konnten Parzellen mit 6 m² realisiert werden. In beiden Versuchsjahren und an beiden Versuchsstandorten erfolgte über die gesamte Vegetationsperiode keine Düngung, Bewässerung oder Pflanzenschutzmaßnahme.

Künstliche Inokulation mit Mykorrhizapilzen

Es wurden wie bei den Gewächshausversuchen Sporen der Arten *G. claroideum*, *G. etunicatum* und *G. intraradices* eingesetzt. Als Trägermaterial für die Sporen diente Blähton, sodass das Mykorrhizagranulat (Top, INOQ GmbH, Schnega, Aufwandmenge 100 ml pro m²) am Versuchsstandort Groß Lüsewitz vor der Aussaat des Getreides mit Hilfe einer Parzellendrillmaschine (Hege 80) auf ca. 8 bis 10 cm Tiefe im Boden abgelegt werden konnte. Am Versuchsstandort Neu Darchau musste das Mykorrhizagranulat versuchstechnisch bedingt zusammen mit dem Getreide ausgebracht werden, sodass eine Ablage auf 8 bis 10 cm nicht realisiert werden konnte.

Quantitativer Nachweis Mykorrhizierung

Nach der Ernte der Versuche in 2012/13 und 2013/14 wurden je Parzelle der mykorrhizierten Variante drei Bodenproben (0 bis 10 cm Tiefe) entnommen und die darin befindlichen Wurzeln ausgewaschen. Die Quantifizierung erfolgte wie unter 3.1.4 beschrieben.

Erfassung der Ertragsparameter

Der Drusch der Parzellen am Versuchsstandort Groß Lüsewitz erfolgte mit Hilfe eines Parzellenmähdreschers (Wintersteiger classic, Wintersteiger, Ried, Österreich). Das Erntegut je Parzelle wurde nach der Ernte aufgereinigt und der Ertrag pro Parzelle und das Tausendkorngewicht bestimmt.

Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung der Feldversuche erfolgte mit dem Statistikpaket SAS, wobei die Schätzung der Gesamtmittelwerte für die mykorrhizierte bzw. nicht mykorrhizierte Variante, die Mittelwertvergleiche zwischen beiden Varianten, sowie die Schätzung der Mittelwerte je Genotyp für die mykorrhizierte und nicht mykorrhizierte Variante, für die Merkmale Kornertrag, Tausendkorngewicht, Wurzelbesiedlung und Mycorrhizal dependency mit der Prozedur PROC MIXED durchgeführt wurde. Multiple Mittelwertvergleiche zwischen den Genotypen für die Merkmale Wurzelbesiedlung und Mycorrhizal dependency konnten ebenfalls mit der Prozedur PROC MIXED, anhand eines LSD-Tests ($\alpha=0,05$) durchgeführt werden. Die Mycorrhizal dependency (MD %) wurde nach der Formel unter 3.1.6 berechnet.

4. Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

4.1 Ergebnisse Gewächshausversuche

4.1.1 Genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit und genomweite Assoziationsstudien

Genotypische Unterschiede in der Mykorrhizierbarkeit

Die Inokulation mit Mykorrhizasporen war in den Versuchsjahren 2013 und 2014 erfolgreich. Alle untersuchten Genotypen konnten nach der Inokulation von einer oder mehreren der verwendeten Mykorrhizaarten besiedelt werden. Quantitativ wurde die Art *G. intraradices* als Hauptbesiedler identifiziert. Die Arten *G. etunicatum* und *G. clariodeum* konnten hingegen nur vereinzelt nachgewiesen werden. Die nicht inokulierten Pflanzen zeigten wie erwartet keine Besiedlung der Wurzeln durch Mykorrhizapilze.

Quantitativ konnten signifikante Unterschiede der prozentualen Besiedlung der Wurzel zwischen der Trockenstress- (34 %) und Normalvariante (46 %) (Abb. 1) festgestellt werden. Die bewässerte Variante wurde signifikant stärker durch Mykorrhizapilze besiedelt als die Trockenstressvariante. Dies war wahrscheinlich auf die geringere Photosyntheseaktivität der Pflanzen unter Trockenstressbedingungen (Flexas and Medrano, 2002, Flexas et al., 2004) und der somit verringerten Produktion von Photosyntheseprodukten zurückzuführen, wodurch auch dem pilzlichen Symbionten weniger Kohlenhydrate zur Verfügung standen.

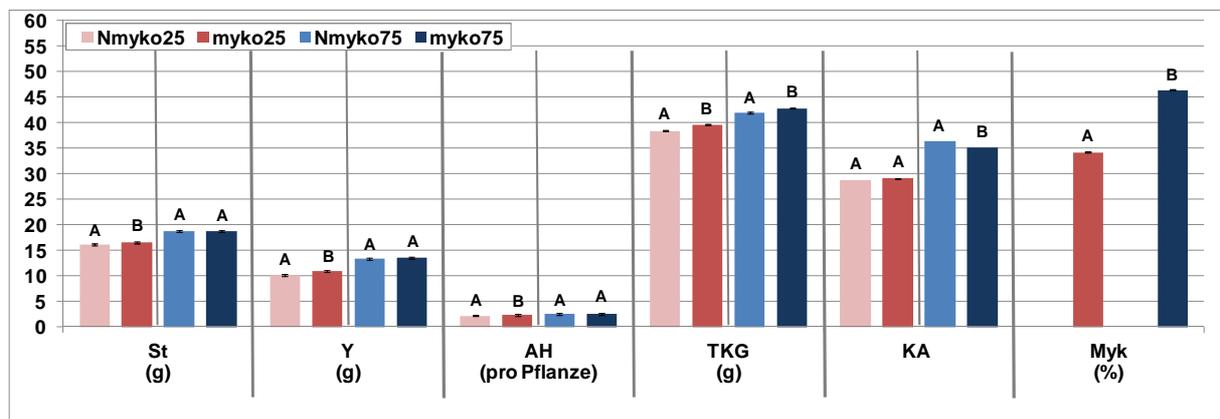


Abbildung 1: Effekt der Mykorrhizierung auf den mittleren Strohertrag (St), den mittleren Kornertrag (Y), die mittlere Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), das mittlere Tausendkorngewicht (TKG), die mittlere Anzahl Körner pro Ähre und die mittlere prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk) unter Trockenstress- und Normalbedingungen, gezeigt für die Behandlungskombinationen nicht mykorrhiziert/ Trockenstress (Nmyko25), nicht mykorrhiziert/ Normalbedingungen (Nmyko75), mykorrhiziert/ Trockenstress (myko25) und mykorrhiziert/ Normalbedingungen (myko75) über zwei Versuchsjahre. Mittelwerte, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha = 0,05$).

Sowohl unter Trockenstress- (16 % bis 53 %), als auch Normalbedingungen (31 % bis 64 %) ließ sich eine breite Variation der Genotypen für das Merkmal Mykorrhizierung beobachten (Abb. 2). Genotypische Unterschiede bezüglich der Fähigkeit Mykorrhizasymbiosen einzugehen, wurden

sichtbar. Dieses spiegelte sich auch in der geschätzten genotypischen Varianz wieder, die für die Besiedlung der Wurzel unter Trockenstressbedingungen, unter Normalbedingungen und auch über beide Bewässerungsvarianten signifikant war (Tab. 1). Die berechnete Heritabilität für das Merkmal prozentuale Besiedlung unter Trockenstressbedingungen, Normalbedingungen und über beide Bewässerungsvarianten ist jedoch niedrig, was auf die hohe Fehlervarianz zurückzuführen ist (Tab. 1).

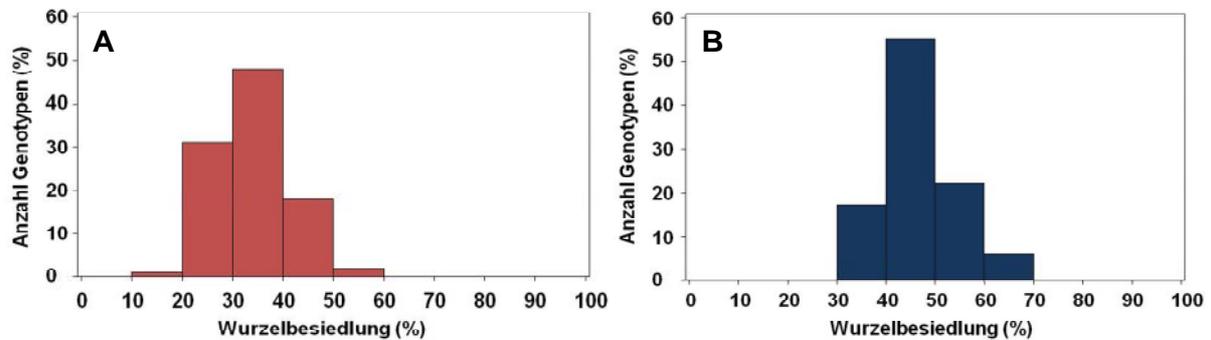


Abbildung 2: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Trockenstress- (A) und Normalvariante (B).

Tabelle 1: Geschätzte Varianzkomponenten (genotypische Varianz, σ^2_g ; Varianz der Genotyp x Jahr Interaktion, σ^2_{gj} ; Fehlervarianz, σ^2), Heritabilität (h^2) und Standardfehler der Heritabilität ($\pm SE$) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA), Besiedlung (Myk), Besiedlung unter Trockenstressbedingungen (Myk25) und Besiedlung unter Normalbedingungen (Myk75), berechnet über zwei Versuchsjahre.

	A	WUH	St	Y	AH	TKG	KA	Myk	Myk25	Myk75
σ^2_g	38,17*	588,82*	19,51*	2,53*	0,11*	21,00*	34,89*	27,52*	21,58*	24,09*
σ^2_{gj}	3,18*	9,07*	0,34*	0,39*	0,02*	2,65*	2,55*	12,24*	47,76*	19,72*
σ^2	22,35*	142,9*	9,12*	12,10*	0,19*	19,71*	78,37*	242,59*	153,98*	216,61*
h^2	0,88	0,95	0,92	0,53	0,73	0,82	0,71	0,37	0,30	0,34
$\pm SE$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$	$\pm 0,01$	$\pm 0,05$	$\pm 0,04$	$\pm 0,03$	$\pm 0,04$	$\pm 0,06$	$\pm 0,1$	$\pm 0,08$

* signifikant zum Niveau von $\alpha = 0,05$

Die Merkmale Zeitpunkt des Ährenschiebens und Wuchshöhe wurden unter Trockenstressbedingungen nicht durch die Mykorrhizierung beeinflusst. Unter Normalbedingungen führte die Mykorrhizierung jedoch zu einer signifikant reduzierten Wuchshöhe (Daten nicht gezeigt). Weiterhin wurden unter Trockenstressbedingungen signifikante Unterschiede zwischen der mykorrhizierten und nicht mykorrhizierten Variante für die Merkmale Strohertrag, Kornertrag, Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze und das Tausendkorngewicht nachgewiesen (Abb. 1). Durch die Mykorrhizierung unter Trockenstressbedingungen bildete sich signifikant mehr Biomasse in Form von Stroh und Korn aus. Zudem wurden signifikant mehr Ähren pro Pflanze mit massereicheren Körnern angelegt. Den größten Effekt hatte die Mykorrhizierung auf den Kornertrag, der im Durchschnitt um 7 % im Vergleich zur nicht mykorrhizierten Variante gesteigert wurde. Jedoch konnte auch gezeigt werden, dass die Mykorrhizierung der Genotypen nicht immer zu einer Ertragssteigerung führt. Einige Genotypen (ca. 30 %) reagierten mit Ertragsverlusten auf die Besiedlung der Wurzel unter Stressbedingungen, was sich in einer negativen Mykorrhizal dependency zeigt (Abb. 3). Unter

Normalbedingungen konnte ein signifikanter Effekt der Mykorrhizierung nur für die Merkmale Tausendkorngewicht und Anzahl Körner pro Ähre beobachtet werden (Abb. 1). Die Merkmale Strohertrag, Kornertrag und die Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze wurden nicht signifikant durch die Mykorrhizierung beeinflusst (Abb. 1). Ca. 50 % der Genotypen reagierten negativ mit einer Ertragsreduktion auf die Mykorrhizierung (Abb. 4). Daran ist zu erkennen, dass die Abhängigkeit der Weizengenotypen von Mykorrhizasymbiosen unter Trockenstressbedingungen größer ist, als unter Normalbedingungen. Es ist davon auszugehen, dass bei den meisten Genotypen unter Trockenstressbedingungen der Nutzen einer Mykorrhizierung die Kosten derselben, durch die zusätzliche Bereitstellung von Wasser und damit produktiverer Photosynthese, übersteigt. Unter Normalbedingungen kann nur noch die Hälfte der Genotypen die Mykorrhizierung effektiv nutzen.

Die Intensität der Besiedlung eines Genotyps war nicht signifikant mit der relativen Ertragsbildung unter Trockenstress- ($r = 0,17$; $\alpha = 0,05$) und Normalbedingungen ($r = 0,02$; $\alpha = 0,05$) korreliert, sodass davon auszugehen ist, dass die Intensität der Besiedlung nicht im direkten Zusammenhang mit Ertragseffekten steht und dieses Merkmal nicht allein für die Identifikation und Selektion der aussichtsreichsten Genotypen bezüglich effektiver Nutzung von Mykorrhizasymbiosen genutzt werden kann. Sinnvoller für die Identifikation von aussichtsreichen Genotypen scheint daher die Berücksichtigung des Merkmal Mycorrhizal dependency, wobei hierbei zu bedenken ist, dass dieses Merkmal stark von Umweltbedingungen beeinflusst wird. Als aussichtsreichste Kandidaten für die züchterische Nutzung des Merkmals Mykorrhizierung gelten somit solche Genotypen, welche sowohl unter Trockenstress- als auch Normalbedingungen effektiv von der Symbiose profitieren.

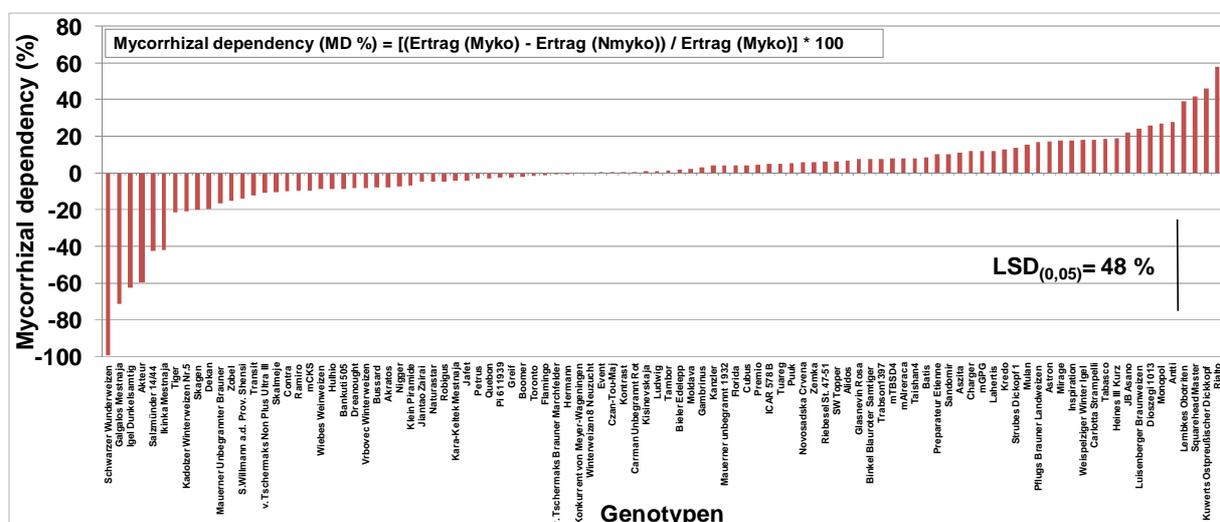


Abbildung 3: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Trockenstressbedingungen. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

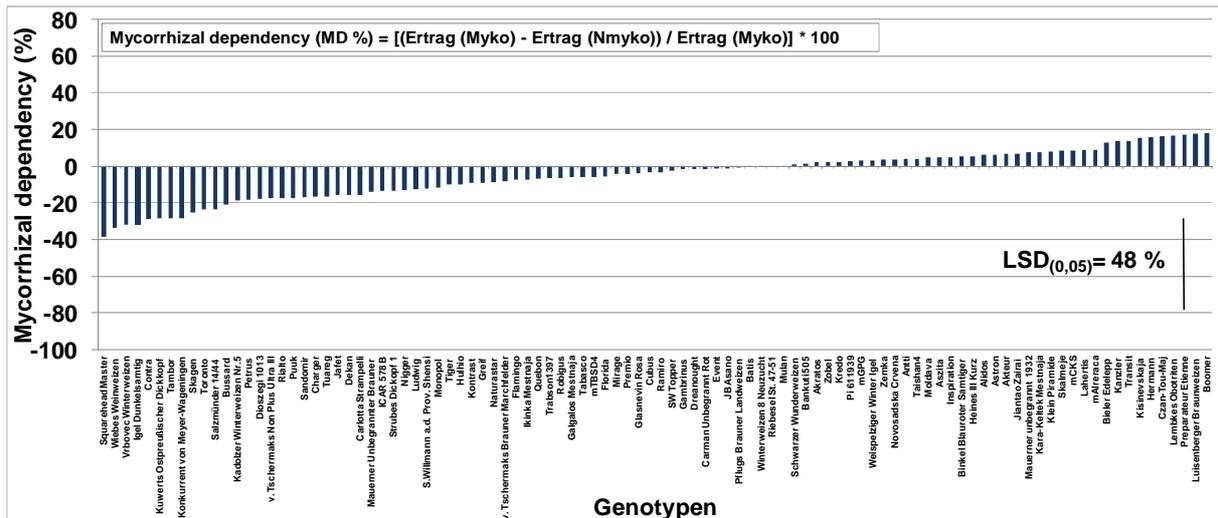


Abbildung 4: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechnete mycorrhizal dependency (%) unter Normalbedingungen. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

Die Ergebnisse des ersten Versuches 2011/12 wurden nicht für eine Verrechnung herangezogen, da die geringe Bestockung in Kombination mit den außergewöhnlichen Bedingungen zu Beginn des Versuches 2011 bedingt durch den erwähnten Hagelschaden in der Gewächshausanlage in Quedlinburg zu nur unzureichend entwickelten Pflanzen führte. Damit konnte nur bedingt Trockenstress induziert werden, so dass die Daten mit denen der Versuchsjahre 2013 und 2014 nicht vergleichbar waren.

Assoziationsgenetische Untersuchungen

17428 polymorphe SNP- Marker mit einer Allelfrequenz >5% wurden auf die Assoziation mit den Merkmalen Kornertrag und Wurzelbesiedlung für die Faktorkombinationen mykorrhiziert 25 % MWK, mykorrhiziert 75 % MWK, nicht mykorrhiziert 25 % sowie nicht mykorrhiziert 75 % getestet. Nach der Auswertung der Assoziationsstudien konnten mehrere signifikante ($p=0,001$) Marker-Merkmalassoziationen identifiziert werden (Abb. 5, Abb. 6 und Abb.7). Für das Merkmal Mykorrhizierung konnten eine Marker- Merkmalsassoziation gefunden werden, die sowohl unter Trockenstress- als auch Normalbedingungen (Abb. 7) signifikant war (Marker_06518 auf Chromosom 3A). Weiterhin konnten zwei Marker- Merkmalsassoziationen (Marker_04200 auf Chromosom 2A und Marker_04394 auf Chromosom 2A) detektiert werden, die mit der Ertragsbildung unter Mykorrhizierung signifikant assoziiert sind (Abb. 5B und 6B). Auf den Chromosomen 2A, 2B, 4B, und 7B konnten zudem signifikante Marker- Merkmalsassoziationen bezüglich Ertragsbildung unter Trockenstressbedingungen (Abb. 5A und 5B), unabhängig von der Mykorrhizierung, nachgewiesen werden, wohingegen signifikante Marker-Merkmalassoziationen bezüglich Ertragsbildung unter Trockenstress und Mykorrhizierung auf den Chromosomen 1A und 5A zu finden waren (Abb. 5B).

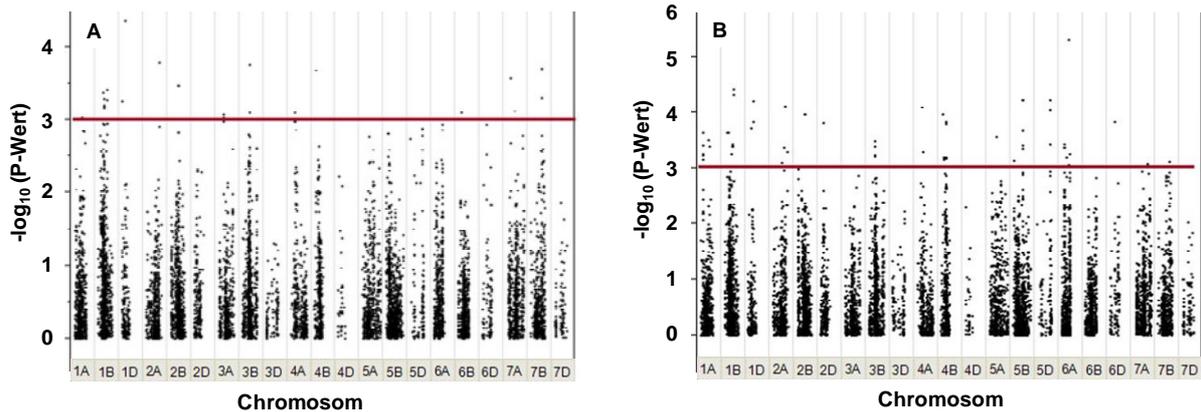


Abbildung 5: Manhattan plots der genomweiten $-\log_{10}$ P-Werte des Merkmals Ertrag unter Trockenstressbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte Variante (A) und mykorrhizierte Variante (B) in Abhängigkeit der chromosomalen Position der Marker. Die rote Linie markiert die Signifikanzgrenze ($p=0,001$).

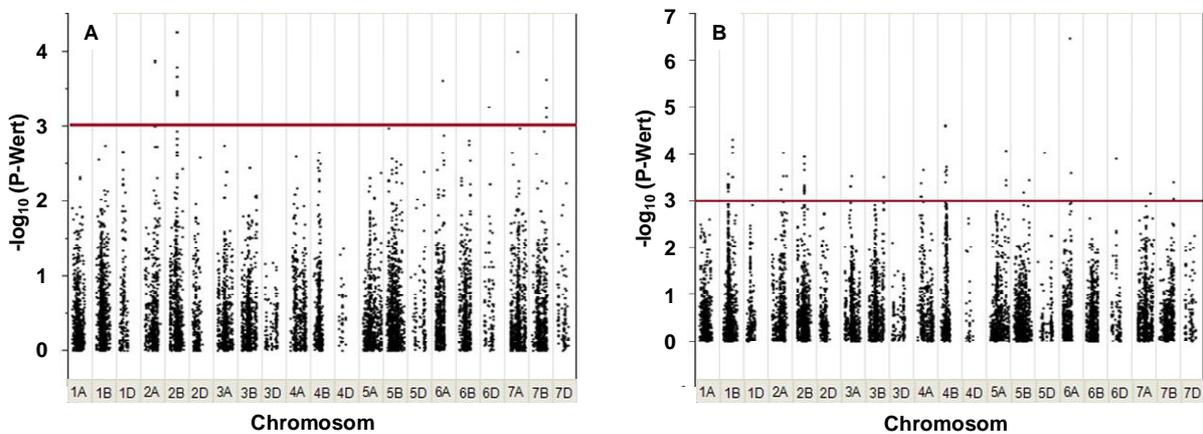


Abbildung 6: Manhattan plots der genomweiten $-\log_{10}$ P- Werte des Merkmals Ertrag unter Normalbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte Variante (A) und mykorrhizierte Variante (B) in Abhängigkeit der chromosomalen Position der Marker. Die rote Linie markiert die Signifikanzgrenze ($p=0,001$).

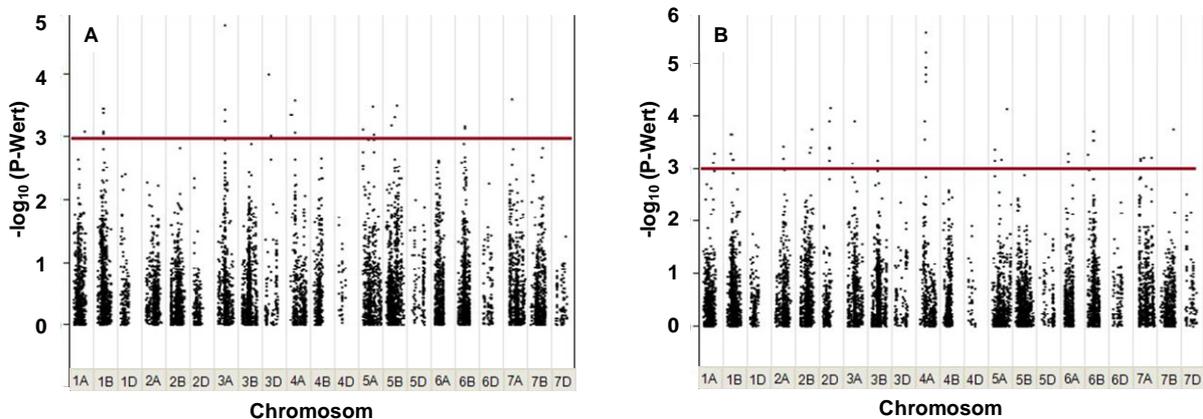


Abbildung 7: Manhattan plots der genomweiten $-\log_{10}$ P- Werte des Merkmals Mykorrhizierbarkeit unter Trockenstress- (A) und Normalbedingungen (B) in Abhängigkeit der chromosomalen Position der Marker. Die rote Linie markiert die Signifikanzgrenze ($p=0,001$).

Schlussfolgerungen

Die durchgeführten Versuche zeigen, dass eine Besiedlung von Weizen durch Mykorrhizapilze möglich ist, jedoch große genotypische Unterschiede hinsichtlich der Mykorrhizierung und in der effektiven Nutzung der Symbiose existieren. Zudem konnte gezeigt werden, dass die Umwelt einen starken Einfluss auf die Ausbildung dieser Symbiose hat und somit eine Selektion von, für die erfolgreiche Züchtung auf das Merkmal Mykorrhizierung, aussichtsreichen Genotypen, die unter verschiedenen Umwelten konstant mit Ertragssteigerungen auf die Besiedlung der Wurzel reagieren, schwierig ist. Unabhängig von der Mykorrhizierbarkeit wurden jedoch auch Unterschiede in der Trockenstresstoleranz der Genotypen sichtbar. Weiterführend ist zu klären, ob die unter Gewächshausbedingungen ermittelten Ergebnisse auch unter Feldbedingungen bestätigt werden können bzw. gefundene Marker-Merkmalssassoziationen auch unter Feldbedingungen beobachtet werden können.

4.1.2 Einfluss der Mykorrhizierung auf die Phosphataufnahme

Ergebnisse der Versuche zur Phosphataufnahme 2012/13 und 2013/14

Die künstliche Inokulation mit Mykorrhizasporen war erfolgreich. Es konnte bei allen verwendeten Genotypen qualitativ eine Besiedlung der Wurzel nachgewiesen werden, wobei die Art *G. intraradices* Hauptbesiedler war. Die Arten *G. claroideum* und *G. etunicatum* traten nur vereinzelt als Besiedler auf. In der nicht mykorrhizierten Variante konnte keine Besiedlung nachgewiesen werden. Unter Phosphormangelbedingungen war quantitativ eine signifikant stärkere Besiedlung der Wurzel (61 %) nachweisbar, als unter optimaler Phosphorversorgung (19 %). Dieses bestätigt Ergebnisse früherer Studien an verschiedenen Kulturpflanzen (Vyas, 2008, Hu et al., 2010, Bonneau et al., 2013), die zeigen, dass eine ausreichende Versorgung der Pflanze mit Phosphor zu einer reduzierten Besiedlung mit Mykorrhizapilzen führt.

Weiterhin ließ sich beobachten, dass unter Mangelbedingungen eine breite phänotypische Variation (36 % bis 82 %) der untersuchten Genotypen bezüglich des Merkmals Mykorrhizierung vorlag, wohingegen die Variation unter Optimalbedingungen (9 % bis 34 %) geringer war (Abb. 8)

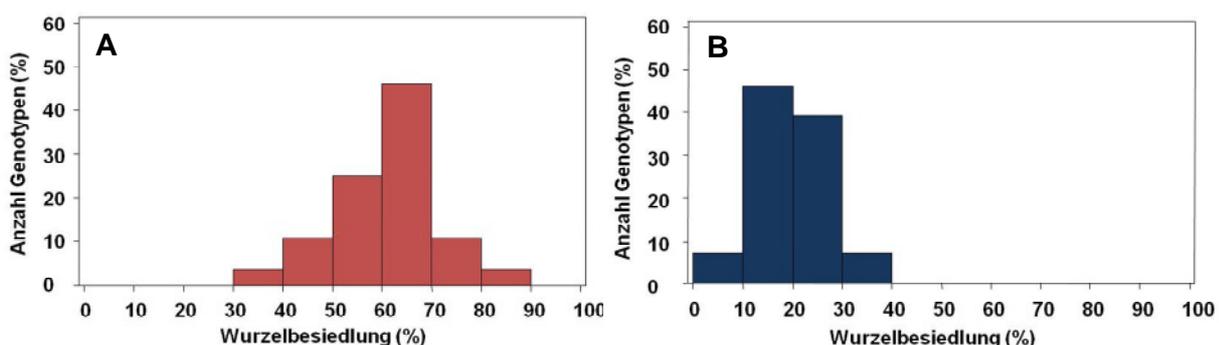


Abbildung 8: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Phosphormangel- (A) und Normalvariante (B).

Die unterschiedlichen Variationsbreiten für das Merkmal Mykorrhizierung unter Phosphormangel- bzw. Optimalbedingungen spiegeln sich ebenfalls in der geschätzten genotypischen Varianz wieder, die zwar für beide Phosphorversorgungsvarianten signifikant ist, jedoch geringer unter Optimalbedingungen (Tab. 2). Dementsprechend ergab sich daraus für das Merkmal prozentuale Wurzelbesiedlung eine mittlere Heritabilität unter Mangelbedingungen, sowie eine niedrige Heritabilität unter optimaler Phosphorversorgung (Tab. 2).

Tabelle 2: Geschätzte Varianzkomponenten (genotypische Varianz, σ^2_g ; Varianz der Genotyp x Jahr Interaktion, σ^2_{gj} ; Fehlervarianz, σ^2), Heritabilität (h^2) und Standardfehler der Heritabilität ($\pm SE$) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA), Besiedlung (Myk), Besiedlung unter Phosphormangelbedingungen (Myk-P) und Besiedlung unter optimaler Phosphorversorgung (+P), berechnet für die Versuche zur Phosphormangeltoleranz über zwei Versuchsjahre.

	A	WUH	St	Y	AH	TKG	KA	Myk	Myk-,P	Myk+P
σ^2_g	113,77*	665,31*	15,03*	0,38*	0,07*	22,56*	5,96*	35,55*	58,92*	18,57*
σ^2_{gj}	34,14*	34,08*	0,48*	0,97*	< 0,01*	3,26*	17,81*	1,44*	54,65*	23,25*
σ^2	11,74*	62,43*	7,00*	3,15*	0,22*	14,31*	19,86*	157,64*	192,75*	121,86*
h^2	0,86	0,96	0,91	0,27	0,66	0,85	0,33	0,57	0,50	0,37
$\pm SE$	$\pm 0,05$	$\pm 0,01$	$\pm 0,07$	$\pm 0,41$	$\pm 0,1$	$\pm 0,06$	$\pm 0,25$	$\pm 0,14$	$\pm 0,14$	$\pm 0,16$

* signifikant zum Niveau von $\alpha = 0,05$

Der Phosphormangel hatte Auswirkungen auf die Entwicklung der Pflanzen. Die Biomasseproduktion in Form von Strohertrag und Anzahl ährentragender Halme, als auch der Kornertrag und die Ertragsparameter Anzahl Körner pro Ähre und Tausendkorngewicht waren signifikant reduziert unter Phosphormangelbedingungen, im Vergleich zur optimal mit Phosphor gedüngten Variante (vgl. Tab. 3 und 4). Zudem konnten signifikante Effekte der Mykorrhizierung auf die Merkmale Wuchshöhe, Strohertrag, Kornertrag, Tausendkorngewicht und die Anzahl Körner pro Ähre nachgewiesen werden. Die Mykorrhizierung reduzierte signifikant Wuchshöhe, Strohertrag, Kornertrag, Tausendkorngewicht und Anzahl Körner pro Ähre unter Phosphormangelbedingungen (Tab. 3), sowie Wuchshöhe, Strohertrag, Kornertrag und Tausendkorngewicht unter optimaler Phosphorversorgung (Tab. 4), verglichen mit der nicht mykorrhizierten Variante. Am negativsten wirkte sich die Mykorrhizierung jedoch auf den Kornertrag aus, der um 17 % reduziert wurde. Wie die berechnete Mycorrhizal dependency für den Kornertrag zeigt, wurde die Mehrheit der Genotypen unter Mangel- (Abb. 9) und auch Optimalbedingungen (Abb. 10) negativ durch die Mykorrhizierung beeinflusst, obwohl hierbei auch genotypische Unterschiede erkennbar waren. Es konnte ein schwach negativer Zusammenhang zwischen der Intensität der Besiedlung eines Genotyps und der Ertragsbildung unter Phosphormangelbedingungen ($r = -0,38$; $0,05$) und auch unter optimaler Phosphorversorgung ($r = -0,37$; $\alpha = 0,05$) festgestellt werden. Da die Mehrzahl aller untersuchten Genotypen negativ auf die Mykorrhizierung unter starkem Mangel reagierte, ist davon auszugehen, dass unter diesen speziellen Bedingungen nicht eine mutualistische sondern eine parasitische Wechselwirkung zwischen Pflanze und Pilz vorliegt. Allerdings muss davon ausgegangen werden, dass dieses nicht allein auf die Phosphormangelbedingungen zurückzuführen ist, da auch unter optimaler Phosphorversorgung signifikant negative Effekte der Mykorrhizierung zu erkennen waren. Vielmehr wird vermutet, dass die Kultivierung der mykorrhizierten Pflanzen über Winter im Gewächshaus einhergehend mit nicht ausreichend Tageslicht, zu dem negativen Effekt der Mykorrhizierung führte.

Tabelle 3: Mittelwerte (Mittel) und Standardfehler (\pm SE) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA) und prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk), dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante unter Phosphormangelbedingungen (-P). Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha=0,05$).

Behandlung		A	WUH	St	Y	AH	TKG	KA	Myk
myko-P	Mittel	72,00 ^a	98,86 ^a	10,46 ^a	5,66 ^a	1,57 ^a	35,74 ^a	23,35 ^a	61,14
	\pm SE	$\pm 0,45$	$\pm 0,44$	$\pm 0,42$	$\pm 0,14$	$\pm 0,09$	$\pm 0,39$	$\pm 0,57$	$\pm 1,48$
Nmyko-P	Mittel	71,00 ^a	106,17 ^b	11,95 ^b	6,81 ^b	1,62 ^a	37,68 ^b	26,60 ^b	
	\pm SE	$\pm 0,45$	$\pm 0,44$	$\pm 0,42$	$\pm 0,15$	$\pm 0,09$	$\pm 0,39$	$\pm 0,57$	

Tabelle 4: Mittelwerte (Mittel) und Standardfehler (\pm SE) für die Merkmale Zeitpunkt Ährenschieben (A), Wuchshöhe (WUH), Strohertrag (St), Kornertrag (Y), Anzahl ährentragender Halme (AH), Tausendkorngewicht (TKG), Anzahl Körner pro Ähre (KA) und prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk), dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante unter optimaler Phosphorversorgung (+P). Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha=0,05$).

Behandlung		A	WUH	St	Y	AH	TKG	KA	Myk
myko+P	Mittel	72,00 ^a	107,59 ^a	20,98 ^a	12,83 ^a	3,40 ^a	39,32 ^a	25,53 ^a	18,76
	\pm SE	$\pm 0,45$	$\pm 0,44$	$\pm 0,42$	$\pm 0,15$	$\pm 0,09$	$\pm 0,38$	$\pm 0,58$	$\pm 1,48$
Nmyko+P	Mittel	73,00 ^a	110,50 ^b	21,83 ^b	13,43 ^b	3,37 ^a	40,66 ^b	26,62 ^a	
	\pm SE	$\pm 0,45$	$\pm 0,44$	$\pm 0,42$	$\pm 0,14$	$\pm 0,09$	$\pm 0,38$	$\pm 0,57$	

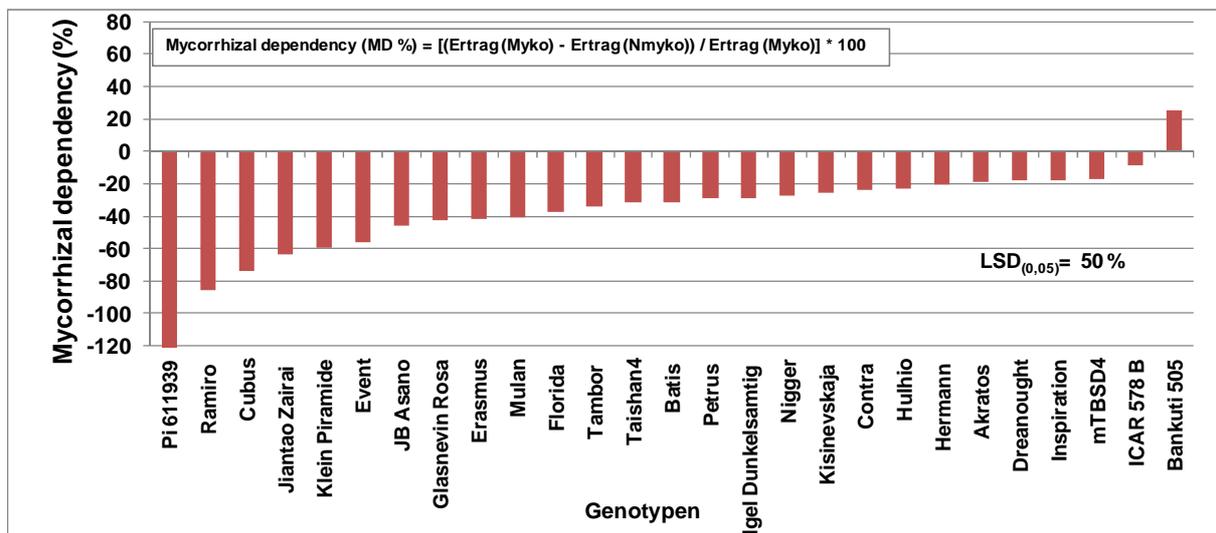


Abbildung 9: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha=0,05$).

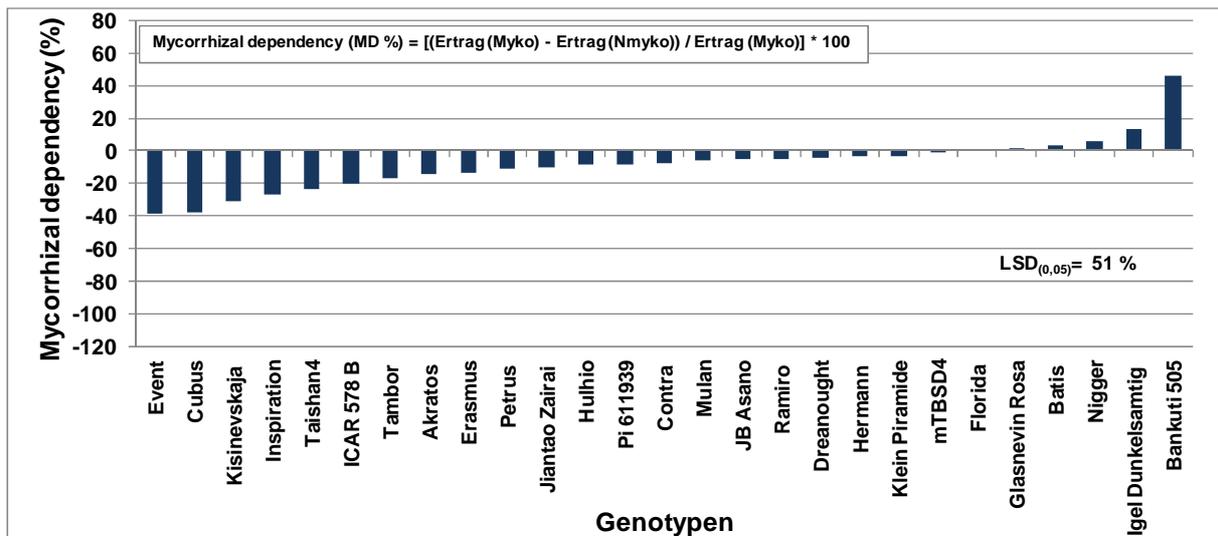


Abbildung 10: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter optimaler Phosphorversorgung. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

Ergebnisse der zusätzlichen Versuche zur Phosphataufnahme 2013/14

Die Inokulation mit Mykorrhizasporen in den Aufwandmengen 1 % und 4 % führte zur Besiedlung der Wurzeln aller untersuchten Genotypen. Die Aufwandmenge hatte einen signifikanten Einfluss auf die Intensität der Besiedlung unter Phosphormangelbedingungen. Die Pflanzen der 4 % Variante waren signifikant stärker mykorrhiziert (67 %) als die Pflanzen der 1 % Variante (45 %) (Abb. 11). Insgesamt ließ sich eine breite Variation der Genotypen für das Merkmal Mykorrhizierung erkennen (Abb.12).

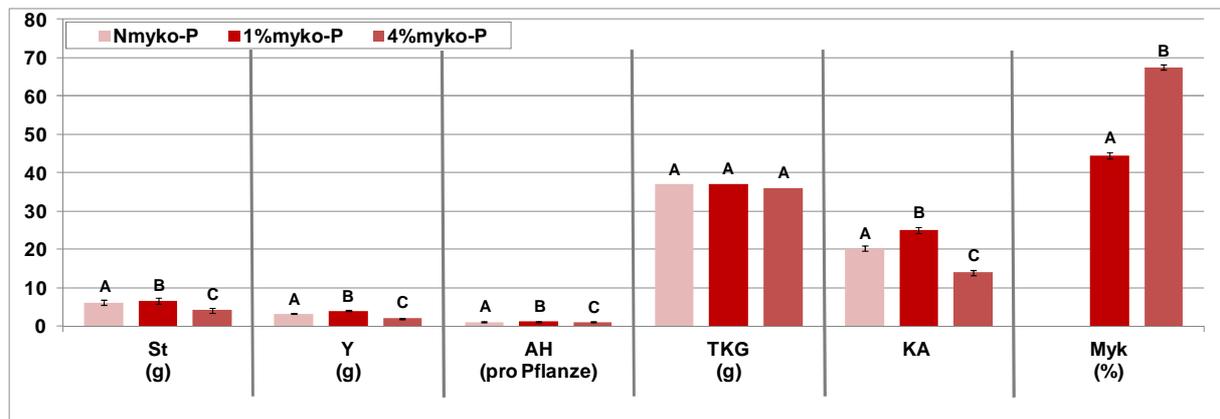


Abbildung 11: Effekt der Mykorrhizierung auf den mittleren Strohertrag (St), den mittleren Kornerntrag (Y), die mittlere Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze (AH), das mittlere Tausendkorngewicht (TKG), die mittlere Anzahl an Körnern pro Ähre und die mittlere prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk) unter Phosphormangelbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante, sowie für die Varianten mit einer Aufwandmenge von 1 % (1%myko) bzw. 4 % (4%myko) Mykorrhizagranulat, für das Versuchsjahr 2013/14. Mittelwerte, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha = 0,05$).

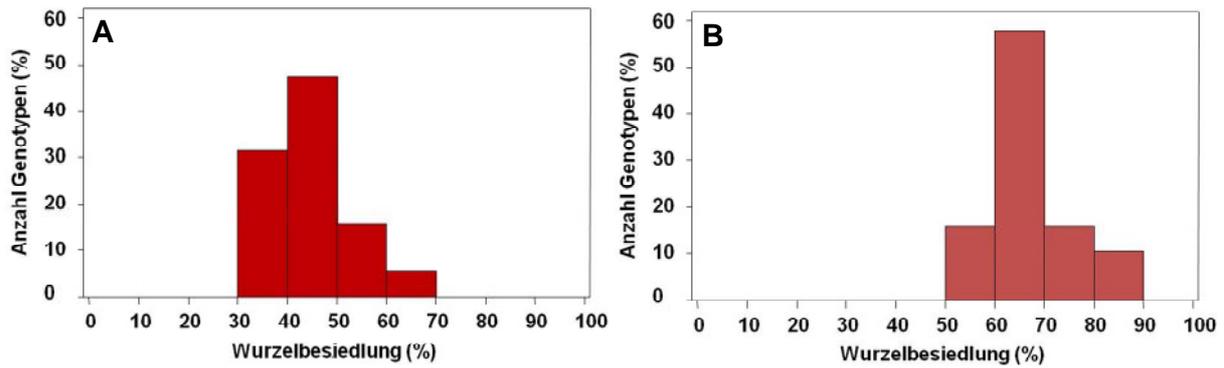


Abbildung 12: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Variante mit einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat (A) und die Variante mit einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat (B) unter Phosphormangelbedingungen für das Versuchsjahr 2013/14.

Zudem konnten signifikante Effekte bezüglich der Merkmale Strohertrag, Kornertrag, Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze und Anzahl Körner pro Ähre zwischen den Varianten festgestellt werden. Die Pflanzen der 1 % Variante zeigten einen signifikant gesteigerten Stroh- und Kornertrag sowie eine signifikant höhere Anzahl von ährentragenden Halmen pro Pflanze bzw. Körnern pro Ähre als die 4 % und die nicht mykorrhizierte Variante. Die Kornertragsteigerung der 1 % Variante betrug 49 % bzw. 27 % vergleichen mit der 4 % bzw. nicht mykorrhizierten Variante. Durch die Berechnung der Mycorrhizal dependency konnte weiterhin gezeigt werden, dass die Mehrzahl der Genotypen in der 1 % Variante positiv von der Mykorrhizierung in Bezug auf die Kornertragsbildung beeinflusst wurde (Abb. 13). Wohingegen in der 4 % Variante ein negativer Effekt der Mykorrhizierung bei allen Genotypen auftrat (Abb. 14). Es ließ sich jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Intensität der Besiedlung und der Ertragsbildung für die 1 % ($r = 0,12$; $\alpha = 0,05$) und die 4 % ($r = 0,15$; $\alpha = 0,05$) Variante nachweisen.

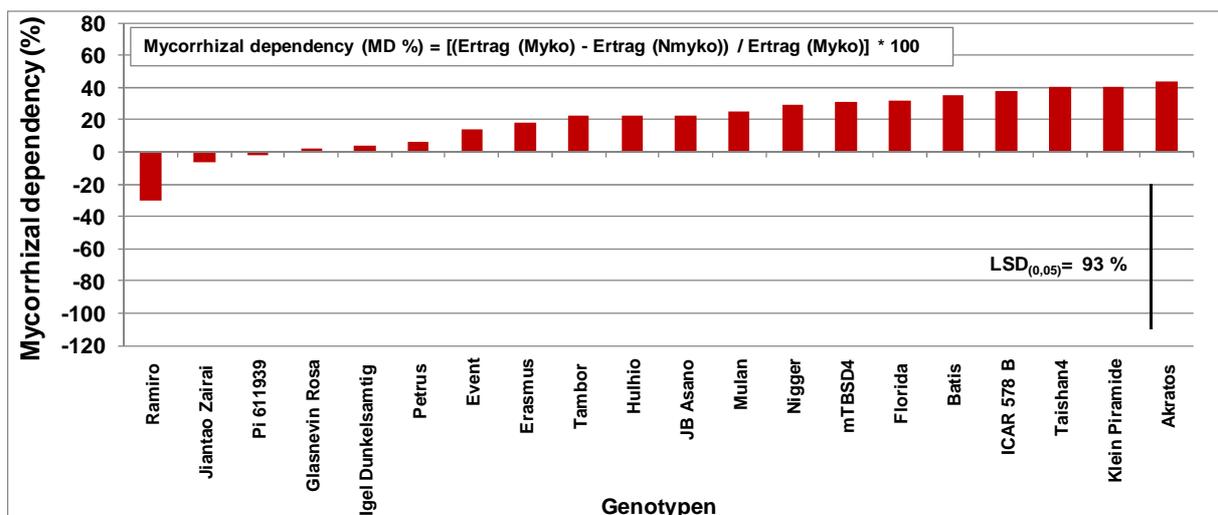


Abbildung 13: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2013/14. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

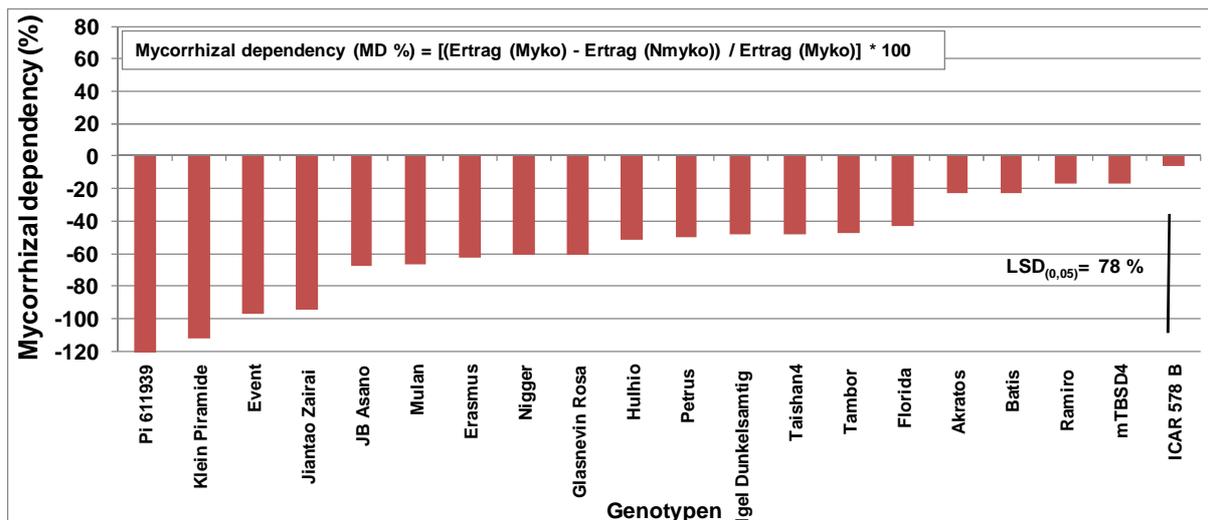


Abbildung 14: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2013/14. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

Ergebnisse der zusätzlichen Versuche zur Phosphataufnahme 2014

Alle Genotypen waren nach Inokulation mit Mykorrhizapilzen besiedelt. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in der Intensität der Besiedlung zwischen der 1 % Variante (60 %) und der 4 % Variante (70 %) beobachtet werden (Abb. 15). Jedoch ließen sich genotypische Unterschiede und eine breite Variation für das Merkmal prozentuale Besiedlung nachweisen (Abb. 16).

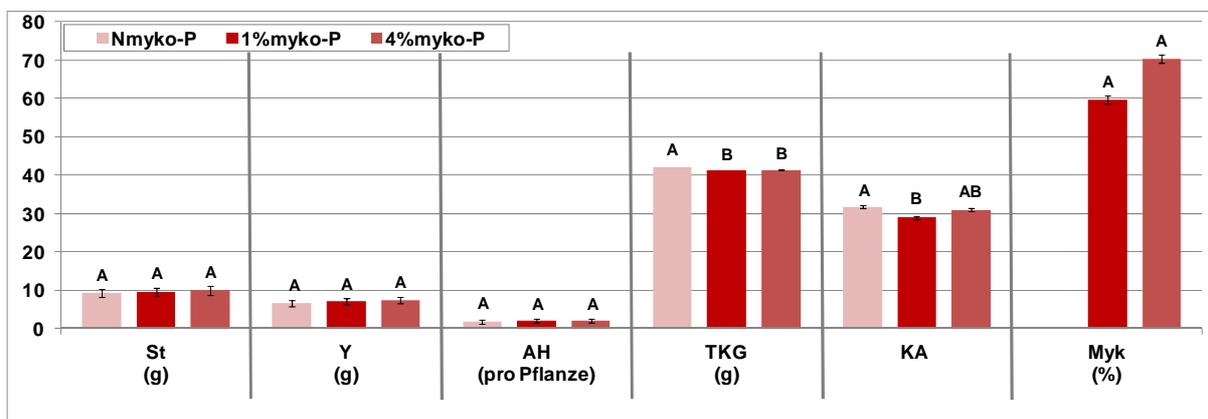


Abbildung 15: Effekt der Mykorrhizierung auf den mittleren Strohertrag (St), den mittleren Kornерtrag (Y), die mittlere Anzahl Ährentragender Halme pro Pflanze (AH), das mittlere 1000- Korngewicht (TKG), die mittlere Anzahl an Körnern pro Ähre und die mittlere prozentuale Besiedlung der Wurzel (Myk) unter Phosphormangelbedingungen, gezeigt für die nicht mykorrhizierte (Nmyko), 1 % mykorrhiziert (1%myko) und 4 % mykorrhiziert (4%myko) Variante für das Versuchsjahr 2014. Mittelwerte, die mit gleichen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha = 0,05$).

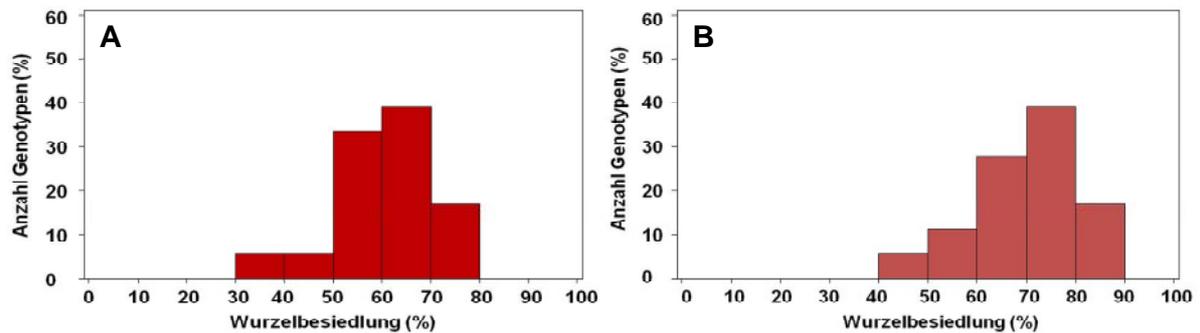


Abbildung 16: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch, gezeigt für die Variante mit einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat (A) und die Variante mit einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat (B) unter Phosphormangelbedingungen für das Versuchsjahr 2014.

Signifikante Unterschiede zwischen den Varianten waren nur für die Merkmale Tausendkorngewicht und die Anzahl Körner pro Ähre zu erkennen. In der nicht mykorrhizierten Variante wurde ein signifikant höheres Tausendkorngewicht realisiert, als in der 1 % bzw. 4 % Variante sowie signifikant mehr Körner pro Ähre angelegt als in der 1 % Variante. Für die Merkmale Strohertrag, Kornertrag und die Anzahl ährentragender Halme pro Pflanze konnten keine signifikanten Unterschiede zwischen den Varianten gezeigt werden. Jedoch konnten genotypische Unterschiede in der effektiven Nutzung der Mykorrhizierung festgestellt werden (Abb. 17 und 18). Weiterhin wurde kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Intensität der Besiedlung und der Ertragsbildung in der 1 % Variante ($r = -0,04$; $\alpha = 0,05$) bzw. der 4 % Variante ($r = 0,30$; $\alpha = 0,05$) festgestellt. Im Gegensatz zu dem im Versuchsjahr 2013/14 angelegten zusätzlichen Versuch konnte gezeigt werden, dass unter günstigeren Umweltbedingungen die Mehrzahl der Genotypen von der Mykorrhizierung unter Phosphormangelbedingungen, sowohl in der 1 % als auch in der 4 % Variante, profitierte. Anhand der zusätzlich durchgeführten Versuche konnte gezeigt werden, dass die Mykorrhizierung von Weizen unter Phosphormangelbedingungen nicht generell zu negativen Effekten bezüglich des Ertrags führte. Jedoch hatte die Intensität der Besiedlung bzw. die verwendete Aufwandmenge des Mykorrhizagranulates unter bestimmten Umweltbedingungen einen Einfluss.

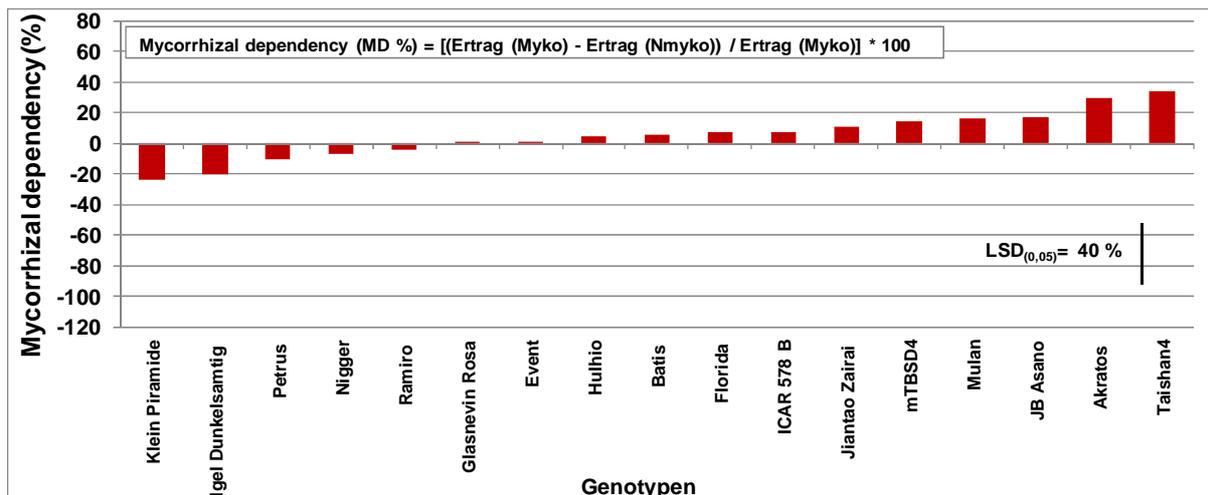


Abbildung 17: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 1 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2014. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

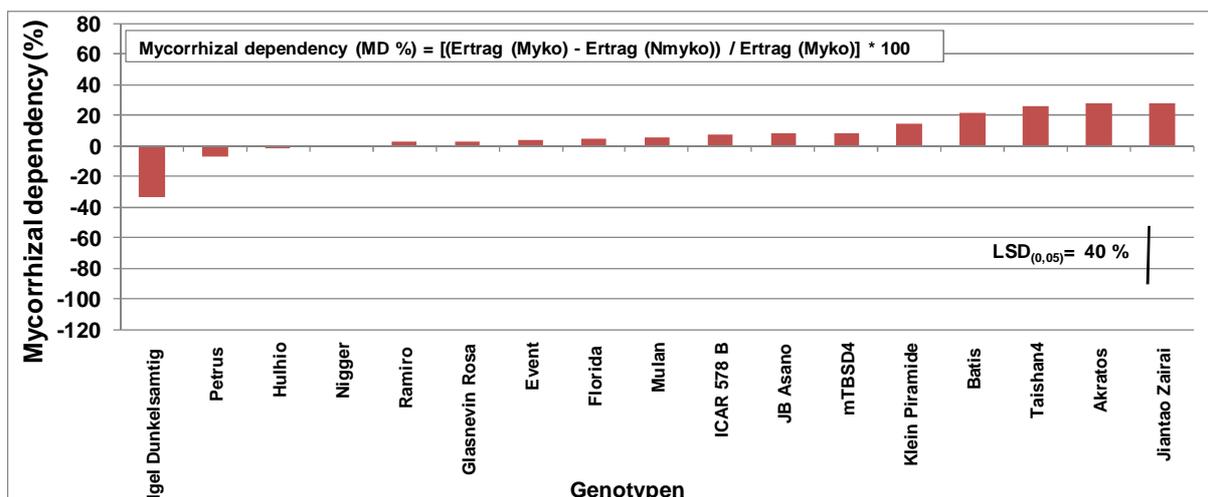


Abbildung 18: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Phosphormangelbedingungen und einer Aufwandmenge von 4 % Mykorrhizagranulat für das Versuchsjahr 2014. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

Schlussfolgerungen

Durch die zusätzlichen Versuche konnte wiederlegt werden, dass die Mykorrhizierung der Weizenwurzel unter Phosphormangelbedingungen und optimaler Phosphorversorgung einen negativen Einfluss auf den Ertrag der Genotypen hatte. Vielmehr muss davon ausgegangen werden, dass die Kultivierung von mykorrhiziertem Weizen über die Wintermonate im Gewächshaus, aufgrund ungenügender Photosyntheseleistung der Pflanzen, trotz zusätzlicher Assimilationsbeleuchtung, nicht sinnvoll ist bzw. zum Erhalt aussagekräftiger Ergebnisse geringere Aufwandmengen des Granulates verwendet werden müssen. Abschließend kann festgestellt werden, dass auch unter Phosphormangelbedingungen genotypische Unterschiede bezüglich der effektiven Nutzung von Mykorrhizasymbiosen auftreten..

4.1.3 Erfassung des Einflusses der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit

Anfälligkeit gegenüber Mehltau

72 h nach der Inokulation mit *B. graminis* konnten mikroskopisch keine signifikanten Unterschiede in der Anzahl von Zellen mit Abwehrreaktionen um eine Infektionsstelle zwischen mykorrhizierter und nicht mykorrhizierter Variante festgestellt werden (Tab. 5). Zwei Wochen nach der Inokulation wies die mykorrhizierte Variante jedoch makroskopisch einen signifikant geringeren prozentualen Blattbefall mit Mehltau auf, als die nicht mykorrhizierte Variante. Vier Wochen nach Inokulation waren keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Varianten nachweisbar (Tab. 5). Die Ergebnisse geben Hinweise darauf, dass die Mykorrhizierung zu einer schwachen Verlangsamung der Mehltauinfektion im frühen Stadium der Infektion führte, jedoch später nicht mehr nachzuweisen war. Insgesamt war der Mehltaubefall aller Genotypen gering aufgrund der ungünstigen Witterung nach der Inokulation. Weiterhin konnten keine signifikanten Ertragsunterschiede zwischen der mykorrhizierten (34,1 g pro Topf) und nicht mykorrhizierten (33,3 g pro Topf) Variante festgestellt werden.

Tabelle: 5: Mittelwerte für die Anzahl der Pflanzenzellen mit Abwehrreaktionen 72 h nach künstlicher Inokulation mit *Blumeria graminis* und die prozentual befallene Blattfläche zwei (Bonitur 1) und vier (Bonitur 2) Wochen nach künstlicher Inokulation mit *Blumeria graminis* dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante der 30 untersuchten Weizengenotypen. Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden ($\alpha=0,05$).

Behandlung	72h	Bonitur 1	Bonitur 2
	Zellen mit Abwehrreaktionen	%	%
myko	0,6 ^a	1,0 ^a	2,2 ^a
Nmyko	0,6 ^a	1,4 ^b	2,5 ^a

Anfälligkeit gegenüber Braunrost

144 h nach der Inokulation mit *P. triticina* wurde an 30 Infektionsstellen pro Blatthälfte mikroskopisch das Stadium der Infektion bestimmt und der prozentuale Anteil von Infektionsstellen im Stadium der ausgebildeten Infektionshyphne, des Apressoriums, des Vesikel und der Haustorienmutterzelle ermittelt. 240 h nach der Inokulation zeigte sich, wie auch im Mehltauversuch, das im frühen Stadium der Infektion eine Verlangsamung der Braunrostentwicklung durch die Mykorrhizierung auftrat. Es war bei signifikant mehr Infektionsstellen eine Anzahl von mehr als 50 Haustorienmutterzellen je Infektionsort und mehr Uredosporenlager je Blattfläche auf den Blättern der nicht mykorrhizierten Variante zu beobachten (Tab. 6). Jedoch waren diese Unterschiede 4 Wochen nach der Inokulation makroskopisch anhand der befallenen Blattfläche der Pflanzen nicht mehr festzustellen (Tab. 6). Insgesamt war der Braunrostbefall aller Genotypen gering aufgrund der ungünstigen Witterung nach der Inokulation. Signifikante Ertragsunterschiede zwischen den Varianten mykorrhiziert (33,0 g pro Topf) und nicht mykorrhiziert (30,3 g pro Topf) traten nicht auf.

Tabelle: 6: Mittelwerte für die der Anzahl von Infektionsorten mit mehr als 50 Haustorienmutterzellen (HMZ>50) bzw. Kolonien (Kolonien) pro cm² Blattfläche 240 Stunden nach künstlicher Inokulation mit *Puccinia triticina* und Prozent befallene Blattfläche vier (Bonitur) Wochen nach künstlicher Inokulation mit *Puccinia triticina* dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante der 17 symptomtragenden Weizengenotypen. Genotypen des verwendeten Sets, die keine Symptome zeigten wurden nicht für die statistische Verrechnung heangezogen. Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant verschieden($\alpha= 0,05$).

Behandlung	HMZ>50	Kolonien	Bonitur
	Anzahl pro cm ²	Anzahl pro cm ²	%
myko	12,5 ^a	23,2 ^a	6,2 ^a
Nmyko	69,9 ^b	65,7 ^b	6,6 ^a

Schlussfolgerungen

Abschließend muss davon ausgegangen werden, dass die Mykorrhizierung keinen signifikanten Einfluss auf die Krankheitsanfälligkeit gegenüber *B. graminis* und *P. triticina* hatte.

4.2 Ergebnisse Feldversuche

4.2.1 Feldversuche

Groß Lüsewitz

Die Ausbringung der Mykorrhizasporen im Feld war erfolgreich. Jeder Genotyp konnte nach Inokulation besiedelt werden. Eine schwache genotypische Varianz bezüglich der Symbiosefähigkeit der Genotypen wurde sichtbar (Abb. 19), jedoch war die Besiedlung unter Feldbedingungen geringer ausgeprägt als unter Gewächshausbedingungen (vgl. Abb. 2 und Abb. 8). Gründe hierfür können unvorteilhafte Klimabedingungen während der Vegetationsperiode, aber auch verhältnismäßig hohe im Boden nachgewiesene Phosphorgehalte (11,1 bis 13,1 mg/g, 2012/13; 14,5 bis 18,7 mg/g, 2013/14) gewesen sein. Auch die stichprobenartig untersuchten nicht mykorrhizierten Parzellen wiesen teilweise eine schwache Besiedlung auf. Eine Verschleppung des ausgebrachten Mykorrhizainokulums von der mykorrhizierten in die nicht mykorrhizierte Variante war auszuschließen, vielmehr wird davon ausgegangen, dass sich freilebende Mykorrhizaspezies im Boden befanden, die zu einer Besiedlung der nicht inokulierten Variante geführt haben.

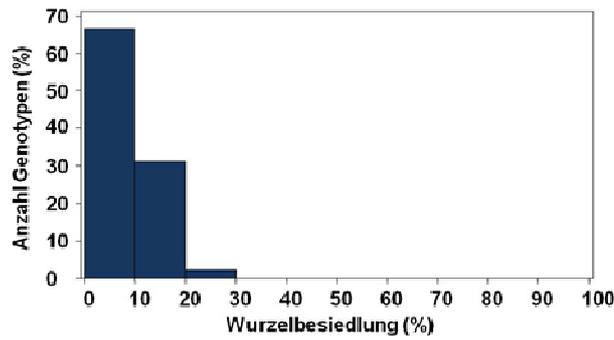


Abbildung 19: Verteilung der Mittelwerte der prozentualen Besiedlung der Wurzel mit Mykorrhizapilzen nach künstlicher Inokulation mit einem Sporengemisch unter Feldbedingungen über zwei Versuchsjahre.

Trotz erfolgreicher Besiedlung der Genotypen konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich des Ertrags pro Parzelle und des Tausendkorngewichtes zwischen den Varianten mykorrhiziert und nicht mykorrhiziert nachgewiesen werden (Tab. 7). Jedoch war ein positiver Ertragseffekt sichtbar. Die mykorrhizierte Variante zeigte einen um 4,7 % gesteigerten Ertrag im Vergleich zur nicht mykorrhizierten Variante. Anhand der berechneten Mycorrhizal dependency konnte sichtbar gemacht werden, dass auch unter Feldbedingungen teilweise signifikante genotypische Unterschiede in der effektiven Nutzung der Symbiose bezüglich des Ertrags auftraten (Abb. 20).

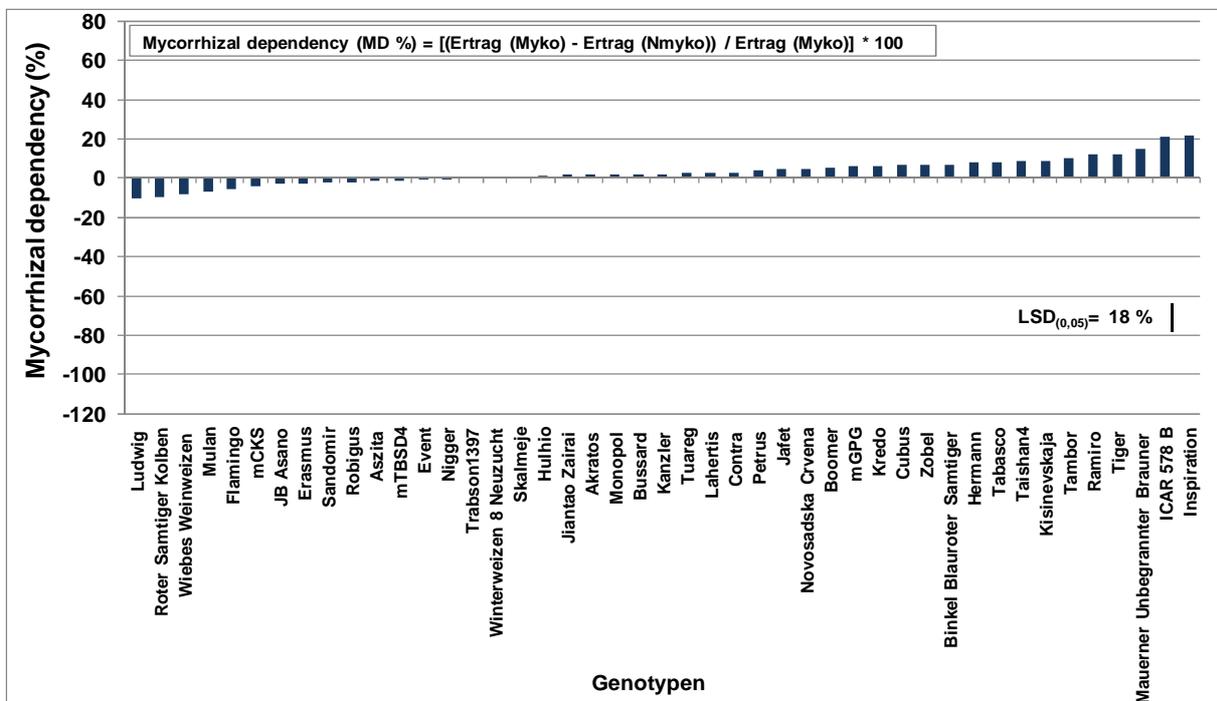


Abbildung 20: Genotypische Unterschiede in der für den Ertrag berechneten Mycorrhizal dependency (%) unter Feldbedingungen über zwei Versuchsjahre. Der vertikal eingezeichnete Balken zeigt die least significant difference (LSD) ($\alpha = 0,05$).

Tabelle 7: Mittelwerte und Standardabweichung für die Merkmale Kornertrag (Y), Tausendkorngewicht (TKG) und prozentuale Wurzelbesiedlung (Myk) dargestellt für die mykorrhizierte (myko) und nicht mykorrhizierte (Nmyko) Variante der 45 untersuchten Weizengenotypen. Mittelwerte, die in einer Spalte stehen und mit einem gemeinsamen Buchstaben versehen sind, sind nicht signifikant voneinander verschieden ($\alpha = 0,05$).

Behandlung		Y	TKG	Myk
		g	g	%
myko	Mittel	1848,80^a	47,13^a	9,19
	±SE	±0,07	±6,81	±3,65
Nmyko	Mittel	1761,30^a	47,36^a	
	±SE	±0,07	±6,81	

Neu Darchau

Da die Ausbringung des Mykorrhizagranulates aus versuchstechnischen Gründen nicht wie geplant vor der Aussaat des Getreides von der Saatzeit Darzau durchgeführt wurde, traten Probleme auf. Die Ausbringung von Granulat und Saatgut in einem Schritt hatte aufgrund unterschiedlicher Größe bzw. unterschiedlichen Gewichtes eine Entmischung von Granulat und Saatgut zur Folge. Infolgedessen wurde nach Feldaufgang bei ca. 50 % der inokulierten Parzellen eine ungleichmäßige Verteilung der Pflanzen bis hin zu großen Fehlstellen innerhalb einer Parzelle sichtbar. Die Auswertung des Versuches war somit nicht möglich, sodass keine verwertbaren Ergebnisse vorliegen.

Schlussfolgerungen

Es konnte anhand der durchgeführten Versuche gezeigt werden, dass eine Besiedlung von Weizen unter Feldbedingungen möglich ist, jedoch nur geringe Ertragseffekte auftreten. Die Ursachen für die vergleichsweise geringe Besiedlung unter Feldbedingungen im Vergleich zu Gewächshausbedingungen konnte allerdings nicht ermittelt werden, da nur Ergebnisse eines Standortes vorlagen und somit keine Aussagen darüber getroffen werden können, welchen Einfluss die Umwelt, im Besonderen die Phosphorverfügbarkeit auf die Entwicklung der Mykorrhizasymbiosen hat. Aufgrund des nachgewiesenen positiven Effekts der Mykorrhizierung unter Phosphormangelbedingungen im Gewächshaus kann davon ausgegangen werden, dass der Effekt der Mykorrhizierung auf den Ertrag an Standorten mit unzureichender Phosphorversorgung größer ist und an diesen eine wirtschaftliche Nutzung sinnvoller wäre.

5. Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse

Ein besonderes Interesse des Bundesprogramms Ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft besteht in der züchterischen Weiterentwicklung von Getreide bezüglich der Stresstoleranz gegenüber Klima- und Umweltfaktoren zur Produktivitätssteigerung im ökologischen Landbau. Die in diesem Projekt gewonnenen Ergebnisse zur Mykorrhizierung und zur agronomischen Leistungsfähigkeit unter Stressbedingungen (Trockenheit, Phosphormangel) sowie entsprechender Wechselwirkungen können die Grundlage bilden den Weizen züchterisch in dieser Richtung zu verbessern. Es konnten neun Genotypen (Novosadska Crvena, Taishan4, Kanzler, Lahertis, mGPG, Binkel Blauroter Samtiger, Kredo, Inspiration und Kisinevskaja) identifiziert werden, die im Gewächshaus unter Trockenstress- und Normalbedingungen sowie auch unter Freilandbedingungen eine Ertragssteigerung durch Mykorrhizierung zeigten. Diese Genotypen scheinen die aussichtsreichsten Kandidaten, im Hinblick auf eine effektive Nutzung der Mykorrhizierung unter verschiedenen Umweltbedingungen zu sein. Die für die verschiedenen Parameter identifizierten Marker- Merkmalsassoziationen bilden die Voraussetzung, die phänotypisch nur schwer erfassbaren Merkmale wie Trockenstresstoleranz oder Mykorrhizierbarkeit in markergestützte Selektionsprogramme zu integrieren, wodurch eine Beschleunigung des Zuchtganges möglich wird und entsprechende Sorten der Praxis schneller zur Verfügung stehen können. Zusätzlich werden die erzielten Ergebnisse in wissenschaftlichen und praxisorientierten Publikationen veröffentlicht, sodass diese einer breiteren Öffentlichkeit zur Verfügung stehen.

6. Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlich erreichten Zielen

Die wissenschaftlichen Ziele des Gesamtvorhabens lagen im Auffinden genotypischer Unterschiede des Weizens bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit Mykorrhizapilzen unter biotischen und abiotischen Stressbedingungen, der Identifikation von Quantitative trait loci (QTL) für die Mykorrhizierbarkeit und Trockenstresstoleranz sowie der anschließenden Selektion der aussichtsreichsten Genotypen, welche die Mykorrhizierung unter Stressbedingungen am effektivsten nutzen.

Die Zielsetzungen wurden im Wesentlichen erreicht, jedoch gestaltet sich aufgrund der unterschiedlichen Reaktion in den verschiedenen Versuchen die Identifikation der Genotypen, welche unter Stressbedingungen die Mykorrhizierung am effektivsten nutzen, schwierig. Unter allen Bedingungen zeigten jedoch die Genotypen Novosadska Crvena, Taishan4, Kanzler, Lahertis, mGPG, Binkel Blauroter Samtiger, Kredo, Inspiration und Kisinevskaja eine Ertragssteigerung durch Mykorrhizierung. Es konnte anhand der erzielten Ergebnisse gezeigt werden, dass genotypische Unterschiede bezüglich der Mykorrhizierbarkeit von Weizen unter Normal-, Trockenstress- und auch Phosphormangelbedingungen vorliegen. Zudem lag je nach Umwelt eine mittlere bis geringe Heritabilität für das Merkmal Mykorrhizierung vor, sodass davon ausgegangen werden kann, dass Züchtung auf dieses Merkmal möglich ist. Es konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen der Intensität der Besiedlung und dem Effekt auf den Ertrag festgestellt werden, sodass davon ausgegangen werden kann, dass eine Züchtung auf die Intensität der Mykorrhizierung zu

keiner signifikanten Verbesserung der Stresstoleranz bzw. Ertragsbildung unter Stressbedingungen führt. Daher wird vorgeschlagen die für den Ertrag berechnete Mycorrhizal dependency als Ausgangspunkt für die Selektion von aussichtsreichen Genotypen zu nutzen, also unabhängig von der Intensität der Besiedlung nur solche Genotypen zu selektieren, welche nach Besiedlung positiv in Form von Ertragssteigerungen auf abiotischen Stress reagieren. Desweiteren sollten für eine Selektion nicht nur die Ergebnisse unter Trockenstressbedingungen, sondern auch die unter Normalbedingungen berücksichtigt werden, um Genotypen zu identifizieren, die unter verschiedenen Umweltbedingungen konstant mit Ertragssteigerung reagieren. Zudem konnte nachgewiesen werden, dass die Mykorrhizierung keine dauerhaft gesteigerte oder verringerte Anfälligkeit gegenüber Blattpathogenen verursacht. Unter Nutzung genomweiter Assoziationsstudien konnten QTL für die Höhe der Mykorrhizierbarkeit identifiziert werden. Weiterführend können die gefundenen Marker-Merkmalassoziationen bezüglich der Mykorrhizierbarkeit züchterisch genutzt werden, auch wenn die Intensität der Mykorrhizierung nicht allein ausschlaggebend für die Stresstoleranz ist.

7. Zusammenfassung

7.1 Zusammenfassung (deutsch)

Weizen (*Triticum aestivum*) ist eine der bedeutendsten Kulturpflanzen für die menschliche Ernährung. Die Notwendigkeit sowohl unter veränderten Klimabedingungen mit häufiger auftretenden abiotischen und biotischen Stresssituationen als auch auf Grenzstandorten langfristig stabile Erträge zu erzielen, führt im konventionellen und insbesondere im ökologischen Landbau zu einem Bedarf an Weizengenotypen mit verbesserter abiotischer und biotischer Stresstoleranz. Neben der Verbesserung der Stresstoleranz per se, stellt die Nutzung der Mykorrhiza eine Möglichkeit zur Verbesserung der Stresstoleranz dar.

Das Ziel des Vorhabens war es daher genetische Unterschiede des Brotweizens (*Triticum aestivum*) bezüglich der Fähigkeit zur Symbiose mit wurzelendopytisch wachsenden Pilzen zu identifizieren, um damit die Grundlagen zu schaffen, entsprechende Unterschiede zukünftig züchterisch nutzbar zu machen. Desweiteren sollten die Auswirkungen der Mykorrhizierung auf die Biomasse- und Kornertragsbildung unter biotischen und abiotischen Stressbedingungen wie Pathogenbefall, Trockenstress oder Phosphormangel, welche verstärkt unter ökologischen Produktionsbedingungen auftreten, sowie entsprechende Wechselwirkungen erfasst und mittels assoziationsgenetischer Studien molekulare Marker für diese Parameter identifiziert werden. Das Projekt leistete damit einen Beitrag zur Anpassung von Kulturpflanzen an den Klimawandel.

Zu diesem Zweck wurden in den Versuchsjahren 2011, 2012, 2013 und 2014 an 103 Weizengenotypen Gewächshausversuche zur Mykorrhizierbarkeit, sowie der Ermittlung von Trockenstress- und Phosphormangeltoleranz (30 Genotypen) angelegt. Zudem wurden in den Versuchsjahren 2012/13 und 2013/14 Feldversuche zur Mykorrhizierung von Weizengenotypen unter Freilandbedingungen, sowie ein Freilandversuch zur Bestimmung der Krankheitsanfälligkeit von Weizen gegenüber *Blumeria graminis* und *Puccinia triticina* nach Mykorrhizierung durchgeführt. Parallel dazu erfolgte eine Genotypisierung mittels 90k iSelect Chip. Somit konnte eine genomweite

Assoziationsstudie (GWAS) zur Identifikation von QTL, die an Trockenstresstoleranz und Mykorrhizierung beteiligt sind, durchgeführt werden.

Alle untersuchten Genotypen konnten erfolgreich durch Mykorrhizapilze besiedelt werden, wobei die Art *Glomus intraradices* der Hauptbesiedler war. Es konnte gezeigt werden, dass eine breite genotypische Variation für das Merkmal Mykorrhizierung existiert, sowohl unter Normal-, Trockenstress- als auch Phosphormangelbedingungen. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, dass die Mykorrhizierung bei der Mehrheit der untersuchten Genotypen zu Ertragssteigerungen unter Mangelbedingungen führte, jedoch auch Genotypen auftraten, die mit Ertragsreduktion unter bestimmten Umweltbedingungen reagierten. Es wurde keine Korrelation zwischen der Intensität der Besiedlung und dem Ertragseffekt beobachtet. Vielmehr war der Effekt der Mykorrhizierung auf den Ertrag von den Faktoren Genotyp und Umwelt abhängig. Weiterhin wurde gezeigt, dass eine Mykorrhizierung von Weizen unter Feldbedingungen in geringem Maß möglich war und auch hier genotypische Unterschiede in der Intensität der Besiedlung auftraten. Es konnten jedoch keine signifikanten Ertragsunterschiede zwischen der mykorrhizierten und nicht mykorrhizierten Variante ermittelt werden. Nach der künstlichen Inokulation von Weizen mit *Blumeria graminis* und *Puccinia triticina* unter Freilandbedingungen konnte nur temporär ein Effekt der Mykorrhizierung auf die Krankheitsanfälligkeit festgestellt werden. Anhand der durchgeführten Assoziationsstudie wurden signifikante Marker- Merkmalsassoziationen für die Mykorrhizierung bzw. die Trockenstresstoleranz ermittelt.

7.2 Abstract (english)

Wheat (*Triticum aestivum*) is one of the most important crops for human nutrition worldwide. Due to climate change and an increased demand for wheat, tolerance against biotic and abiotic stress is an important goal in wheat breeding, today. Besides raising stress tolerance per se, the use of mycorrhiza for improving stress tolerance is an option.

Therefore, the project aimed at the estimation of the genetic diversity of wheat with respect to root colonization by mycorrhizal fungi and its impact on yield especially under abiotic and biotic stress conditions. Based on these results molecular markers should be identified based on genome wide association studies (GWAS).

To achieve this, several greenhouse trials were conducted in 2011, 2012, 2013 and 2014. Root colonization by mycorrhizal fungi, tolerance to drought stress and phosphorous deficiency were evaluated. Furthermore, in 2012/13 an 2013/14 field trials were conducted, in order to evaluate mycorrhizal root colonization of wheat under field conditions. In addition, possible changes of the susceptibility of wheat to *Blumeria graminis* and *Puccinia triticina* after mycorrhization were determined. In parallel to the analyses of phenotypic data, genotyping using the wheat 90K iSelect chip was conducted in order to identify QTL involved in mycorrhization and tolerance to drought stress via genome wide association studies (GWAS).

Inoculation with spores of mycorrhizal fungi was successful so that on all wheat genotypes analysed mycorrhiza symbiosis was detected. *Glomus intraradices* was identified as the pre-dominant root colonizing *Glomus* species. A broad genetic diversity of wheat to generate mycorrhiza symbiosis was

detected under control conditions as well as under drought stress and phosphorous deficiency conditions. The majority of genotypes showed increased yield under stress conditions after the formation of a mycorrhizal symbiosis. However, some genotypes showed reduced yield after mycorrhization and no correlation between the amount of root colonization and the increase in yield could be observed. The effect of mycorrhization on yield response was strongly affected by genotype and environment. Furthermore, also in field conditions the formation of mycorrhiza and genotypic differences could be detected. Due to environmental effects, e.g. different soil and weather conditions, root colonization was lower in field conditions in comparison to the colonization observed in the greenhouse. No significant differences of yield between the mycorrhizal and non mycorrhizal treatment could be detected in the field. Moreover, mycorrhization did not affect the susceptibility of wheat to *Blumeria graminis* and *Puccinia triticina*. Finally, genome wide association studies revealed several significant marker trait associations with respect to root colonization by mycorrhizal fungi and drought stress tolerance.

8. Literaturverzeichnis

- AL-KARAKI, G., MCMICHAEL, B. & ZAK, J. 2004. Field response of wheat to arbuscular mycorrhizal fungi and drought stress. *Mycorrhiza*, 14, 263-269.
- ARCAND, M. M. & SCHNEIDER, K. D. 2006. Plant- and microbial-based mechanisms to improve the agronomic effectiveness of phosphate rock: a review. *Anais Da Academia Brasileira De Ciencias*, 78, 791-807.
- BAON, J. B., SMITH, S. E. & ALSTON, A. M. 1993. PHOSPHORUS ALLOCATION IN P-EFFICIENT AND INEFFICIENT BARLEY CULTIVARS AS AFFECTED BY MYCORRHIZAL INFECTION. *Plant and Soil*, 155, 277-280.
- BONNEAU, L., HUGUET, S., WIPF, D., PAULY, N. & HOAI-NAM, T. 2013. Combined phosphate and nitrogen limitation generates a nutrient stress transcriptome favorable for arbuscular mycorrhizal symbiosis in *Medicago truncatula*. *New Phytologist*, 199, 188-202.
- DAEI, G., ARDEKANI, M. R., REJALI, F., TEIMURI, S. & MIRANSARI, M. 2009. Alleviation of salinity stress on wheat yield, yield components, and nutrient uptake using arbuscular mycorrhizal fungi under field conditions. *Journal of Plant Physiology*, 166, 617-625.
- DIAGNE, N., ESCOUTE, J., LARTAUD, M., VERDEIL, J. L., FRANCHE, C., KANE, A., BOGUSZ, D., DIOUF, D., DUPONNOIS, R. & SVISTOONOFF, S. 2011. Uvitex2B: a rapid and efficient stain for detection of arbuscular mycorrhizal fungi within plant roots. *Mycorrhiza*, 21, 315-321.
- FLEXAS, J., BOTA, J., LORETO, F., CORNIC, G. & SHARKEY, T. D. 2004. Diffusive and metabolic limitations to photosynthesis under drought and salinity in C(3) plants. *Plant Biology*, 6, 269-279.
- FLEXAS, J. & MEDRANO, H. 2002. Drought-inhibition of photosynthesis in C-3 plants: Stomatal and non-stomatal limitations revisited. *Annals of Botany*, 89, 183-189.
- FRIEDEL, J. K., JAKUPAJ, S., GOLLNER, M., HRBEK, R., FLAMM, C., OBERFORSTER, M., ZECHNER, E., KINASTBERGER, A. & LOSCHENBERGER, F. 2008. *Mycorrhization of winter wheat cultivars in organic farming*.
- GERNNS, H., VON ALTEN, H. & POEHLING, H. M. 2001. Arbuscular mycorrhiza increased the activity of a biotrophic leaf pathogen - is a compensation possible? *Mycorrhiza*, 11, 237-243.
- HAUSE, B. & FESTER, T. 2005. Molecular and cell biology of arbuscular mycorrhizal symbiosis. *Planta*, 221, 184-196.

- HETRICK, B. A. D., WILSON, G. W. T. & COX, T. S. 1992. MYCORRHIZAL DEPENDENCE OF MODERN WHEAT-VARIETIES, LANDRACES, AND ANCESTORS. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, 70, 2032-2040.
- HILDERMANN, I., THOMMEN, A., DUBOIS, D., BOILER, T., WIEMKEN, A. & MADER, P. 2008. *Response of old, new and organically bred winter wheat cultivars in different farming systems: concept and experimental layout in the DOK field trial.*
- HOLLAND, J. B., NYQUIST, W. E. & CERVANTES-MARTINEZ, C. T. 2003. Estimating and interpreting heritability for plant breeding: an update. *Plant Breeding Reviews*, 22, 9-112.
- HOVHANNISYAN, N. A., DULLOO, M. E., YESAYAN, A. H., KNUEPFFER, H. & AMRI, A. 2011. Tracking of Powdery Mildew and Leaf Rust Resistance Genes in *Triticum boeoticum* and *T. urartu*, Wild Relatives of Common Wheat. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 47, 45-57.
- HU, J., LIN, X., WANG, J., CUI, X., DAI, J., CHU, H. & ZHANG, J. 2010. Arbuscular mycorrhizal fungus enhances P acquisition of wheat (*Triticum aestivum* L.) in a sandy loam soil with long-term inorganic fertilization regime. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 88, 781-787.
- JANOUSKOVA, M., RYDLOVA, J., PUESCHEL, D., SZAKOVA, J. & VOSATKA, M. 2011. Extraradical mycelium of arbuscular mycorrhizal fungi radiating from large plants depresses the growth of nearby seedlings in a nutrient deficient substrate. *Mycorrhiza*, 21, 641-650.
- JUDEL, G. K., GEBAUER, W. G. & MENGEL, K. 1985. YIELD RESPONSE AND AVAILABILITY OF VARIOUS PHOSPHATE FERTILIZER TYPES AS ESTIMATED BY EUF. *Plant and Soil*, 83, 107-115.
- LI, K., XU, C., LI, Z., ZHANG, K., YANG, A. & ZHANG, J. 2008. Comparative proteome analyses of phosphorus responses in maize (*Zea mays* L.) roots of wild-type and a low-P-tolerant mutant reveal root characteristics associated with phosphorus efficiency. *The Plant Journal*, 55, 927-939.
- MANSKE, G. G. B. 1990. Genetical analysis of the efficiency of VA mycorrhiza with spring wheat. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 29, 273-280.
- MCGONIGLE, T. P., MILLER, M. H., EVANS, D. G., FAIRCHILD, G. L. & SWAN, J. A. 1990. A NEW METHOD WHICH GIVES AN OBJECTIVE-MEASURE OF COLONIZATION OF ROOTS BY VESICULAR ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI. *New Phytologist*, 115, 495-501.
- MCINTOSH, R. A. W., C.R.; ,PARK, R.F. 1995. *Wheat Rusts- An Atlas of Resistance Genes*. CSIRO Publications, Victoria (Australia).
- MOLL, E. F., K.; TESSENOW, I. 2010. Bewertung der Resistenz von Getreidesortimenten Planung und Auswertung der Versuche mit Hilfe der SAS-Anwendung RESI 2. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut* 154.
- OMAR, S. A. 1998. The role of rock-phosphate-solubilizing fungi and vesicular-arbuscular-mycorrhiza (VAM) in growth of wheat plants fertilized with rock phosphate. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 14, 211-218.
- PARNISKE, M. 2008. Arbuscular mycorrhiza: the mother of plant root endosymbioses. *Nature Reviews Microbiology*, 6, 763-775.
- PLENCHETTE, C., FORTIN, J. A. & FURLAN, V. 1983. Growth responses of several plant species to mycorrhizae in a soil of moderate P-fertility. *Plant and Soil*, 70, 199-209.
- SMITH, S. E. & READ, D. J. 1997. *Mycorrhizal symbiosis*.
- 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, 354-356.
- TICCONI, C. A. & ABEL, S. 2004. Short on phosphate: plant surveillance and countermeasures. *Trends in Plant Science*, 9, 548-555.
- TOTH, R., TOTH, D., STARKE, D. & SMITH, D. R. 1990. VESICULAR-ARBUSCULAR MYCORRHIZAL COLONIZATION IN ZEA-MAYS AFFECTED BY BREEDING FOR RESISTANCE TO FUNGAL PATHOGENS. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne De Botanique*, 68, 1039-1044.
- VIERHEILIG, H., COUGHLAN, A. P., WYSS, U. & PICHE, Y. 1998. Ink and vinegar, a simple staining technique for arbuscular-mycorrhizal fungi. *Applied and Environmental Microbiology*, 64, 5004-5007.

- VYAS, D. 2008. VA mycorrhizal status in wheat cultivar 306 under different phosphorus concentration. *Indian Journal of Agroforestry*, 10, 62-64.
- WATZKE, R. S., A.; STÜTZER, M.; HACKER, R.; JOHNE, S. Practical application of VA-Mycorrhiza for recultivation and reforestation. 5th International Conference on Mycorrhiza, 2006 Granada, Spain.
- ZHU, Y. G. & SMITH, S. E. 2001. Seed phosphorus (P) content affects growth, and P uptake of wheat plants and their association with arbuscular mycorrhizal (AM) fungi. *Plant and Soil*, 231, 105-112.
- ZHU, Y. G., SMITH, S. E., BARRITT, A. R. & SMITH, F. A. 2001. Phosphorus (P) efficiencies and mycorrhizal responsiveness of old and modern wheat cultivars. *Plant and Soil*, 237, 249-255.

9. Übersicht über die im Berichtszeitraum realisierten Veröffentlichungen, sowie bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Im Berichtszeitraum wurden keine Veröffentlichungen in begutachteten Zeitschriften realisiert. Die erzielten Ergebnisse wurden jedoch einer breiten Öffentlichkeit in Form folgenden Posterbeiträgen und Vorträgen zugänglich gemacht. Kurfassungen der Posterbeiträge und Vorträge sind folgenden Tagungsbänden erschienen:

58. Deutsche Pflanzenschutztagung in Braunschweig

Lehnert, H., Serfling, A., Ordon, F. 2012a: Einfluss der Mykorrhizierung auf die Toleranz von Weizengenotypen gegenüber biotischem und abiotischem Stress. *Julius-Kühn-Archiv*. 438: 383-384. (Begleitender Artikel zum gleichnamigen Poster)

5. Nachwuchswissenschaftlerforum in Quedlinburg

Lehnert, H., Serfling, A., Ordon, F. 2012b: Impact of a vesicular arbuscular mycorrhiza symbiosis on biotic and abiotic stress tolerance of wheat. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut*. 167:42. (Begleitender Artikel zum gleichnamigen Poster)

6. Nachwuchswissenschaftlerforum in Quedlinburg

Lehnert, H., Serfling, A., Ordon, F. 2013: Influence of arbuscular mycorrhizal fungi on abiotic stress tolerance of wheat. *Berichte aus dem Julius Kühn-Institut*. 171:19. (Begleitender Artikel zum gleichnamigen Vortrag)

EUCARPIA Tagung in Werningerode

Lehnert, H., Serfling, A., Ordon, F. 2014a: Impact of arbuscular mycorrhizal fungi on drought stress tolerance of wheat. *EUCARPIA Cereal Section I. T. M. S. Joint Conference - Book of abstracts*. S. 234. (Begleitender Artikel zum gleichnamigen Poster)

59. Deutsche Pflanzenschutztagung in Freiburg

Lehnert, H., Serfling, A., Ordon, F. 2014b: Einfluss von Mykorrhizapilzen auf die abiotische Stresstoleranz von Weizen (*Triticum aestivum*). Julius-Kühn-Archiv. 447: 453. (Begleitender Artikel zum gleichnamigen Poster)

Zudem wurden zu Teilthemen des Projektes folgende Bachelorarbeiten angefertigt:

Der Einfluss von Mykorrhizapilzen auf die Stresstoleranz von Winterweizen gegenüber *Puccinia triticina*. Franziska Merx. Universität Halle, Institut für Agrar- und Ernährungswissenschaften.

Der Einfluss von wurzelendophytisch wachsenden Pilzen auf die Resistenz von Weizen (*Triticum aestivum*) gegenüber Mehltau (*Blumeria graminis*). Eric Watzke. Fachhochschule Neubrandenburg. Fachbereich Agrarwirtschaft und Lebensmittelwissenschaften.

Weiterhin sind zusätzlich Veröffentlichungen in Form einer Dissertation, sowie von Publikationen in begutachteten Zeitschriften geplant.

ANHANG

Anhang 1: Verwendete Genotypen

Genotyp- Nummer	Kategorie	Bezeichnung	Verwendung*	Herkunft
1	(v)	Mauerner Unbegannter Brauner	AP1, AP4, AP5	Deutschland
2	(vi)	Trabson1397	AP1, AP4, AP5	Türkei
3	(ii)	Ludwig	AP1, AP4, AP5	Deutschland
4	(vi)	S.Willmann a.d. Prov. Shensi	AP1, AP5	China
5	(vi)	Novosadska Crvena	AP1, AP4, AP5	Jugoslawien
6	(vi)	Taishan4	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	China
7	(ii)	Monopol	AP1, AP4, AP5	Deutschland
8	(ii)	Kanzler	AP1, AP4, AP5	Deutschland
9	(ii)	Florida	AP1, AP2, AP3, AP5, Z	Deutschland
10	(ii)	Greif	AP1, AP5	Deutschland
11	(iii)	Bussard	AP1, AP4, AP5	Deutschland
12	(ii)	Toronto	AP1, AP5	Deutschland
13	(ii)	Contra	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5	Deutschland
14	(ii)	Tambor	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
15	(ii)	Alidos	AP1, AP5	Deutschland
16	(ii)	Ramiro	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
17	(ii)	Kontrast	AP1, AP5	Deutschland
18	(ii)	Batis	AP1, AP2, AP3, AP5, Z	Deutschland
19	(ii)	Transit	AP1, AP5	Deutschland
20	(ii)	Petrus	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
21	(vi)	Robigus	AP1, AP4, AP5	Großbritannien
22	(vi)	Ikinka Mestnaja	AP1, AP2, AP3, AP5	Kazakhstan
23	(i)	Skalmeje	AP1, AP4, AP5	Deutschland
24	(v)	Strubes Dickopf 1	AP1, AP5	Deutschland
25	(ii)	Dekan	AP1, AP5	Deutschland
26	(i)	Tiger	AP1, AP4, AP5	Deutschland
27	(v)	Mauerner unbegrannt 1932	AP1, AP5	Deutschland
28	(iii)	Naturastar	AP1, AP5	Deutschland
29	(i)	Akteur	AP1, AP5	Deutschland
30	(i)	Lahertis	AP1, AP4, AP5	Deutschland
31	(i)	Akratos	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
32	(i)	Hermann	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5	Deutschland
33	(iii)	Aszita	AP1, AP4, AP5	Deutschland
34	(i)	Zobel	AP1, AP4, AP5	Deutschland
35	(i)	Skagen	AP1, AP5	Deutschland
36	(vi)	Nigger	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Frankreich
37	(vi)	Zemka	AP1, AP5	Sowjetunion
38	(vi)	Puuk	AP1, AP5	Estland
39	(vi)	Kadolzer Winterweizen Nr.5	AP1, AP5	Polen
40	(vi)	Gambrinus	AP1, AP5	Deutschland
41	(v)	Bieler Edelepp	AP1, AP5	Deutschland
42	(vi)	v. Tschermaks Brauner Marchfelder	AP1, AP5	Österreich
43	(vi)	ICAR 578 B	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Rumänien
44	(v)	Salzmünder 14/44	AP1, AP5	Deutschland
45	(v)	Kuwerts Ostpreußischer Dickkopf	AP1, AP5	Deutschland
46	(v)	Luisenberger Braunweizen	AP1, AP5	Deutschland
47	(v)	Weispelziger Winter Igel	AP1, AP5	Deutschland
48	(vi)	Konkurrent von Meyer-Wageningen	AP1, AP5	Niederlande

Genotyp- Nummer	Kategorie	Bezeichnung	Verwendung*	Herkunft
49	(vi)	v. Tschermaks Non Plus Ultra III	AP1, AP5	Österreich
50	(v)	Pflugs Brauner Landweizen	AP1, AP5	Deutschland
51	(v)	Wiebes Weinweizen	AP1, AP4, AP5	Deutschland
52	(vi)	Winterweizen 8 Neuzucht	AP1, AP4, AP5	Österreich
53	(vi)	Glasnevin Rosa	AP1, AP2, AP3, AP5	Irland
54	(v)	Roter Samtiger Kolben	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
55	(vi)	Klein Piramide	AP1, AP2, AP3, AP5, Z	Argentinien
56	(v)	Igel Dunkelsamtig	AP1, AP2, AP3, AP5, Z	Deutschland
57	(vi)	Carman Unbegannt Rot	AP1, AP5	Ungarn
58	(vi)	Vrbovec Winterweizen	AP1, AP5	Tschechoslowakei
59	(v)	Riebesel St. 47-51	AP1, AP5	Deutschland
60	(iv)	Sandomir	AP1, AP4, AP5	Darzac
61	(iv)	mTBSD4	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Darzac
62	(iv)	mGPG	AP1, AP4, AP5	Darzac
63	(iv)	mCKS	AP1, AP4, AP5	Darzac
64	(iv)	mAlreraca	AP1, AP2, AP3, AP5	Darzac
65	(vi)	Czan-Tou-Maj	AP1, AP5	China
66	(vi)	Hulhio	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Finnland
67	(ii)	Flamingo	AP1, AP4, AP5	Deutschland
68	(vi)	Bankuti 505	AP1, AP2, AP3, AP5	Ungarn
69	(vi)	Galgos Mestnaja	AP1, AP5	Portugal
70	(v)	Schwarzer Wunderweizen	AP1	Deutschland
72	(v)	Binkel Blauroter Samtiger	AP1, AP4, AP5	Deutschland
73	(v)	Heines III Kurz	AP1, AP5	Deutschland
74	(i)	SW Topper	AP1, AP5	Deutschland
75	(vi)	Carlotta Strampelli	AP1, AP5	Italien
76	(vi)	Preparateur Etienne	AP1, AP5	Frankreich
77	(vi)	Dreanought	AP1, AP2, AP3, AP5	Neuseeland
78	(vi)	Squarehead Master	AP1, AP5	Großbritannien
79	(i)	Kredo	AP1, AP4, AP5	Deutschland
80	(i)	Mulan	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
81	(vi)	Kara-Keltek Mestnaja	AP1, AP5	Sowjetunion
82	(vi)	Dioszegi 1013	AP1, AP5	Ungarn
83	(vi)	Antti	AP1, AP5	Finnland
85	(i)	Rialto	AP1, AP5	Deutschland
86	(i)	Charger	AP1, AP5	Deutschland
87	(vi)	Pi 611939	AP1, AP2, AP3, AP5, Z	USA
88	(i)	Premio	AP1, AP5	Deutschland
89	(i)	Mirage	AP1, AP5	Deutschland
90	(i)	Boomer	AP1, AP4, AP5	Deutschland
91	(i)	Quebon	AP1, AP5	Deutschland
92	(i)	Jafet	AP1, AP4, AP5	Deutschland
93	(i)	Astron	AP1, AP5	Deutschland
94	(i)	Tuareg	AP1, AP4, AP5	Deutschland
95	(i)	Tabasco	AP1, AP4, AP5	Deutschland
96	(i)	Cubus	AP1, AP2, AP3, AP4	Deutschland
97	(i)	Erasmus	AP1, AP2, AP3, AP4, Z	Deutschland
98	(i)	Event	AP1, AP2, AP3, AP4, Z	Deutschland
99	(i)	JB Asano	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5, Z	Deutschland
100	(i)	Inspiration	AP1, AP2, AP3, AP4, AP5	Deutschland
101	(vi)	Moldava	AP1	Rumänien
102	(vi)	Kisinevskaja	AP1, AP2, AP3, AP4	Moldau Rep.
103	(vi)	San-Uo-Chuan	AP1	China

Genotyp-Nummer	Kategorie	Bezeichnung	Verwendung*	Herkunft
104	(vi)	Jiantao Zairai	AP1, AP2, AP3, AP4, Z	China
105	(v)	Lembkes Obotriten	AP1	Deutschland

* Gibt an, in welchen Versuchen (AP1: Trockenstresstoleranz, AP2: Phosphormangeltoleranz, AP3: Krankheitsanfälligkeit, AP4: Feldversuche; AP5: Assoziationsstudie; Z: zusätzliche Versuche zur Phosphormangeltoleranz) die jeweiligen Genotypen verwendet wurden.

Anhang 2: Bekannte Resistenzgene (Quelle: Serfling *et al.*, 2011; Lannou and Goyea, 2012)

Genotyp-Nummer	Kategorie	Bezeichnung	Resistenzgene (Lr)
6	(vi)	Taishan4	
9	(ii)	Florida	
13	(ii)	Contra	
14	(ii)	Tambor	
16	(ii)	Ramiro	3a; 10; 34
18	(ii)	Batis	13;14a;26
20	(ii)	Petrus	26
22	(vi)	Ikinka Mestnaja	
31	(i)	Akratos	13;14a;26
32	(i)	Hermann	10;13;14a;37
36	(vi)	Nigger	
43	(vi)	ICAR 578 B	
53	(vi)	Glasnevin Rosa	
54	(v)	Roter Samtiger Kolben	
55	(vi)	Klein Piramide	
56	(v)	Igel Dunkelsamtig	
61	(iv)	mTBSD4	
64	(iv)	mAlreraca	
66	(vi)	Hulhio	
68	(vi)	Bankuti 505	
77	(vi)	Dreanought	
80	(i)	Mulan	10;13;14a;37
87	(vi)	Pi 611939	
96	(i)	Cubus	
97	(i)	Erasmus	
98	(i)	Event	
99	(i)	JB Asano	
100	(i)	Inspiration	13;17b;26
102	(vi)	Kisinevskaja	
104	(vi)	Jiantao Zairai	