

Friederike Rex
Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof

Resistenz gegen die Schwarzfäule
(*Guignardia bidwellii*) in der
Weinrebe (*Vitis spec.*) –
Etablierung phänotypischer
Erfassungsmethoden und
genetische Kartierung von
Resistenzloci

Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut



Kontakt:
Friederike Rex
Julius Kühn-Institut
Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen
Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof
76833 Siebeldingen

Die Schriftenreihe „Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut“ veröffentlicht Doktorarbeiten, die in enger Zusammenarbeit mit Universitäten an Instituten des Julius Kühn-Instituts entstanden sind oder herausragende eigenständige Arbeiten aus den Forschungsgebieten des JKI darstellen.

Der Vertrieb dieser Monographien erfolgt über den Buchhandel (Nachweis im Verzeichnis lieferbarer Bücher - VLB) und OPEN ACCESS im Internetangebot www.jki.bund.de Bereich Veröffentlichungen.

Wir unterstützen den offenen Zugang zu wissenschaftlichem Wissen.
Die Dissertationen aus dem Julius Kühn-Institut erscheinen daher OPEN ACCESS.
Alle Ausgaben stehen kostenfrei im Internet zur Verfügung:
<http://www.jki.bund.de> Bereich Veröffentlichungen

We advocate open access to scientific knowledge. Dissertations from the Julius Kühn-Institut are therefore published open access. All issues are available free of charge under <http://www.jki.bund.de> (see Publications).

Bibliografische Information der Deutschen Nationalbibliothek

Die Deutsche Nationalbibliothek verzeichnet diese Publikation
In der Deutschen Nationalbibliografie: detaillierte bibliografische
Daten sind im Internet über <http://dnb.d-nb.de> abrufbar.

ISBN 978-3-930037-92-6

Herausgeber / Editor

Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Quedlinburg, Deutschland
Julius Kühn-Institut, Federal Research Centre for Cultivated Plants, Quedlinburg, Germany

© Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen sowie der genannten Universität, 2012.

Das Werk ist urheberrechtlich geschützt. Die dadurch begründeten Rechte, insbesondere die der Übersendung, des Nachdrucks, des Vortrages, der Entnahme von Abbildungen, der Funksendung, der Wiedergabe auf fotomechanischem oder ähnlichem Wege und der Speicherung in Datenverarbeitungsanlagen, bleiben, auch bei nur auszugsweiser Verwertung, vorbehalten.

**Resistenz gegen die Schwarzfäule
(*Guignardia bidwellii*) in der Weinrebe (*Vitis spec.*) –
Etablierung phänotypischer Erfassungsmethoden und
genetische Kartierung von Resistenzloci**

Zur Erlangung des akademischen Grades eines
DOKTORS DER NATURWISSENSCHAFTEN
(Dr. rer. nat.)

Fakultät für Chemie und Biowissenschaften
Karlsruher Institut für Technologie (KIT) - Universitätsbereich
genehmigte
DISSERTATION

von
Diplom Biologin Friederike Rex
aus
Viersen

Dekan: Prof. Dr. Martin Bastmeyer

Referent: apl. Prof. Dr. Eva Zyprian

Korreferent: Prof. Dr. Holger Puchta

Tag der mündlichen Prüfung: 20. Juli 2012



Die Durchführung dieser Arbeit erfolgte am Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof und wurde durch den Forschungsring des Deutschen Weinbaus (FDW) bei der Deutschen Landwirtschaftsgesellschaft e. V. (DLG) über das Projekt: „Entwicklung eines molekularen Markers für die Resistenz gegen die Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) zum Einsatz in der Rebenzüchtung“ finanziell gefördert.

Teile der Arbeiten für die Feinkartierung auf Chromosom 16 wurden im Rahmen der Bachelorarbeit: „Schwarzfäule-Resistenz bei der Rebsorte ‘Börner’: QTL-Analysen und Feinkartierung auf Kopplungsgruppe 16“ von Franziska Huber, Studentin der Technischen Universität Kaiserslautern erstellt. Die Arbeit wurde am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof von Friederike Rex und an der Technischen Universität Kaiserslautern von Prof. Dr. Matthias Hahn betreut.

Erste Ergebnisse der Arbeit wurden bereits unter dem Titel „Etablierung einer Methode zur Phänotypisierung der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) Resistenz in der Weinrebe (*Vitis spec.*)“ von Rex, F., I. Fechter, L. Hausmann und R. Töpfer (2011) im Julius Kühn-Archiv **430** (Drittes Nachwuchswissenschaftlerforum, 23. - 25. November 2010 in Quedlinburg) veröffentlicht.

INHALTSVERZEICHNIS:

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis	VI
Zusammenfassung	VII
1 Einleitung	1
1.1 Züchtung im Weinbau und neue Technologien	1
1.2 Die Rebenkrankheit Schwarzfäule	3
1.3 Kartierung quantitativer Merkmale	6
1.3.1 Die Kreuzungspopulation	8
1.3.2 Phänotypisierung der Schwarzfäuleresistenz	8
1.3.3 Molekulare Marker und genetische Karten	9
1.3.4 QTL-Analysen und Sequenzierung	11
1.4 Abwehrmechanismen der Rebe gegen Pathogene	13
1.5 Fragestellungen und Ziele der Arbeit	15
2 Material und Methoden	16
2.1 Material	16
2.1.1 Das Pathogen <i>Guignardia bidwellii</i>	16
2.1.2 Das Rebmateriale	16
2.1.2.1 Die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'	16
2.1.2.2 <i>Vitis</i> -Arten und ausgewählte Sorten	16
2.1.3 Geräte	18
2.1.4 Chemikalien und Verbrauchsmaterial	18
2.1.5 Software	19
2.2 Methoden	19
2.2.1 <i>In vitro</i> -Kultur von <i>Guignardia bidwellii</i>	19
2.2.1.1 Herstellung des Nährmediums	19
2.2.1.2 Passage und Propagation von <i>Guignardia bidwellii</i>	20
2.2.1.3 Isolierung neuer Stämme und Blattpassagen	20

2.2.1.4	Herstellung der Konidiensuspension -----	20
2.2.2	Kultur der Topfreben -----	21
2.2.3	Phänotypisierung des Resistenzverhaltens des Rebmaterials -----	21
2.2.3.1	Infektion von Rebmaterial -----	21
2.2.3.2	Versuche zur Phänotypisierung des Resistenzverhaltens -----	22
2.2.3.3	Aufbereitung der Boniturdaten für die QTL-Berechnungen -----	24
2.2.3.4	Versuche an einzelnen Blättern und Blattscheiben -----	27
2.2.4	Lichtmikroskopische Untersuchungen -----	29
2.2.5	QTL- Analysen -----	30
2.2.6	Kartierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' -----	30
2.2.6.1	DNA-Extraktion -----	30
2.2.6.2	Markerentwicklung -----	31
2.2.6.3	PCR -----	32
2.2.6.4	Bestimmung der Fragmentlängen und Erstellung einer genetischen Karte ----	32
3	Ergebnisse -----	34
3.1	<i>Anzucht von Guignardia bidwellii</i> -----	34
3.1.1	Kultur des Pathogens -----	34
3.1.2	Verwendung verschiedener Isolate -----	34
3.2	<i>Entwicklung der Resistenztests und Boniturschemata</i> -----	34
3.3	<i>Resistenzevaluierung der genetischen Ressourcen und Sorten</i> -----	36
3.3.1	Versuche an Topfreben und an Freilandreben-----	36
3.3.2	Infektionsversuche an einzelnen Blättern -----	40
3.4	<i>Resistenzevaluierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'</i> -----	40
3.4.1	Erhebungen im Freiland -----	40
3.4.2	Versuche an Stecklingen -----	40
3.4.3	Evaluierung der Boniturschemata -----	41
3.5	<i>Lichtmikroskopische Untersuchungen</i> -----	43
3.5.1	Morphologie von <i>Guignardia bidwellii</i> -----	43
3.5.2	Qualitative Resistenzevaluierung an infizierten Blättern von Stecklingen ausgewählter Rebsorten -----	45
3.5.3	Quantitative Resistenzevaluierung an Blattscheiben -----	51
3.6	<i>QTL-Analysen</i> -----	54
3.7	<i>Entwicklung neuer molekularer Marker im Bereich der Haupt-QTL und Wiederholung der QTL-Analysen</i> -----	62
3.7.1	Entwickelte Marker und deren Ergebnisse -----	62

3.7.2	Analyse der QTL auf den Chromosomen 14 und 16 nach der Feinkartierung	65
4	Diskussion	69
4.1	<i>Kultur von Guignardia bidwellii</i>	69
4.2	<i>Die Phänotypisierung der Reben</i>	70
4.2.1	Vergleichbarkeit verschiedener Versuchsvarianten und Phänotypisierung	70
4.2.2	Die Infektionsversuche an Blättern und Blattscheiben.....	73
4.2.3	Phänotypisierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'.....	74
4.2.4	Evaluierung der Boniturschemata	75
4.3	<i>Mikroskopische Untersuchungen</i>	76
4.4	<i>QTL-Berechnungen und Feinkartierung</i>	79
4.5	<i>Schlussfolgerungen</i>	84
5	Literatur.....	86
	Anhang.....	i
	<i>Anhang 1: Die Consensus-Karte der Chromosomen 4, 14 und 16</i>	<i>i</i>
	<i>Anhang 2: Primerpaare</i>	<i>ii</i>
	<i>Anhang 3: Zusammenfassung aller QTL-Ergebnisse</i>	<i>vii</i>
	QTL-Analyse mit der Methode Intervall Mapping vor der Feinkartierung	vii
	Gegenüberstellung der QTL aus dem IM und dem MQM.....	xvii
	Eigenständigkeitserklärung	xxv
	Danksagung	xxvi

ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

AFLP	engl.: “ <u>a</u> mplified <u>f</u> ragment length <u>p</u> olymorphism”
BAC	engl.: “ <u>b</u> acterial <u>a</u> rtificial <u>c</u> hromosomes”
DNA	engl.: <u>d</u> eoxyribo <u>n</u> ucleic <u>a</u> cid
dpi	engl.: “ <u>d</u> ays <u>p</u> ost <u>i</u> noculation“, Anzahl der Tage, die nach der Inokulation vergangen sind
FR	Freiland
Gf / GF	Julius Kühn-Institut, Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof
HR	Hypersensitive Reaktion
hpi	engl.: “ <u>h</u> ours <u>p</u> ost <u>i</u> noculation“, Anzahl der Stunden, die nach der Inokulation vergangen sind
IM	engl.: “ <u>i</u> nterval <u>m</u> apping”
KR	Klimaraum
KW	Kruskal-Wallis-Analyse
LG	engl.: “ <u>l</u> inkage <u>g</u> roup“, Kopplungsgruppe
LOD	engl.: “ <u>l</u> ogarithm of the <u>o</u> dds“, Angabe der relativen Wahrscheinlichkeit als Logarithmus zur Basis 10
LRR	engl.: “ <u>l</u> eu <u>c</u> in- <u>r</u> ich <u>r</u> epeat”
MABC	engl.: “ <u>m</u> arker- <u>a</u> ssisted <u>b</u> ackcrossing“, marker-gestützte Rückkreuzung
MAS	engl.: “ <u>m</u> arker- <u>a</u> ssisted <u>s</u> election“, marker-gestützte Selektion
Mo05	ein an der Mosel 2005 gewonnenes Isolat von <i>Guignardia bidwellii</i>
MQM	engl.: “ <u>m</u> ultiple <u>Q</u> TL <u>m</u> apping”
NBS	engl.: “ <u>n</u> ucleotide <u>b</u> inding <u>s</u> ite”
OMA	engl.: “ <u>o</u> at <u>m</u> eal <u>a</u> gar“, Hafermehlagar, Nährmedium
PIWi	im Weinbau bekannte Bezeichnung für <u>p</u> ilz <u>w</u> iderstandsfähige Rebsorte
PM	Permutationstest
<i>Pto</i>	R-Genfamilie ohne LRR-Motiv, deren Produkte sich im Cytoplasma befinden
QTL	engl.: “ <u>q</u> uantitative <u>t</u> rait <u>l</u> ocus”
RAPD	engl.: “ <u>r</u> andom <u>a</u> mplified <u>p</u> olymorphic <u>D</u> NA”
R-Gene	Resistenzgene
RLK	engl.: “ <u>r</u> eceptor- <u>l</u> ike <u>k</u> inase”
SNP	engl.: “ <u>s</u> ingle <u>n</u> ucleotide <u>p</u> olymorphism“, Einzelnukleotid-Austausch
SSR	engl.: “ <u>s</u> imple <u>s</u> equence <u>r</u> epeat“, Mikrosatellitenmarker
T _m	Schmelztemperatur in °C

ABBILDUNGSVERZEICHNIS

<i>Abbildung 1: Schadbild der Rebkrankheit Schwarzfäule auf Beeren und Blättern</i>	<i>4</i>
<i>Abbildung 2: Der Lebenszyklus des Erregers der Schwarzfäule Guignardia bidwellii.....</i>	<i>5</i>
<i>Abbildung 3: Die Versuchsaufbauten zur Durchführung der Infektionsversuche.....</i>	<i>22</i>
<i>Abbildung 4: Blattkulturen für Infektionsversuche mit Guignardia bidwellii.....</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 5: Versuchsaufbau zur Infektion der Blätter mit Mycel von Guignardia bidwellii</i>	<i>28</i>
<i>Abbildung 6: Mit Guignardia bidwellii inokulierte Topfreben im Gewächshaus.....</i>	<i>37</i>
<i>Abbildung 7: Beispiele der Normal-Q-Q-Plots.</i>	<i>42</i>
<i>Abbildung 8: Übersicht über die Morphologie von Guignardia bidwellii.</i>	<i>44</i>
<i>Abbildung 9: Verschiedene Entwicklungsstadien der Hyphennetze von Guignardia bidwellii.....</i>	<i>45</i>
<i>Abbildung 10: Etablierung von Guignardia bidwellii auf 'Müller-Thurgau'.....</i>	<i>48</i>
<i>Abbildung 11: Das Chromosom 14 mit dem Ergebnis der QTL-Analyse.</i>	<i>61</i>
<i>Abbildung 12: Der QTL auf Chromosom 16.....</i>	<i>62</i>
<i>Abbildung 13: Der QTL auf dem Chromosom 14 im Verlauf der Feinkartierung.....</i>	<i>67</i>
<i>Abbildung 14: Der QTL auf dem Chromosom 16 vor und nach der Feinkartierung.</i>	<i>68</i>
<i>Abbildung 15: Resistenzverhalten von zwölf Sorten und Zuchtstämmen,</i>	<i>71</i>
<i>Abbildung 16: Die Kopplungsgruppen 4, 14 und 16 der genetischen Karte.....</i>	<i>i</i>

TABELLENVERZEICHNIS

<i>Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Sorten und Wildarten</i>	17
<i>Tabelle 2: Zusammensetzung des Nährmediums für die Kultur des Schwarzfäuleerregers</i>	20
<i>Tabelle 3: Übersicht über die Versuche zur Resistenzevaluierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'</i>	22
<i>Tabelle 4: Übersicht über die verwendeten Schemata der Bonitur des Schwarzfäulebefalls</i>	24
<i>Tabelle 5: Übersicht über die angewandten Boniturverfahren und ihre Aufbereitung für das Programm MapQTL</i>	25
<i>Tabelle 6: Kodierung der Vererbungsmuster für die Genotypen der Rebenpopulation</i>	33
<i>Tabelle 7: Boniturnoten der im Klimaraum infizierten Rebsorten und Vitis-Arten</i>	36
<i>Tabelle 8: Ergebnisse der im Gewächshaus infizierten Sorten</i>	38
<i>Tabelle 9: Übersicht über die verwendeten Sorten und deren Boniturergebnisse</i>	38
<i>Tabelle 10: Gegenüberstellung der Boniturergebnisse der Sorten im Freiland</i>	39
<i>Tabelle 11: Quantitative Auswertung der Infektionsversuche an Blattscheiben</i>	52
<i>Tabelle 12: Übersicht über die Ergebnisse der QTL-Berechnungen</i>	54
<i>Tabelle 13: Die bezüglich der Anzahl der Bonitursysteme reduzierten Ergebnisse der QTL-Analysen</i> ..	58
<i>Tabelle 14: Von der Genomsequenz PN40024 abgeleitete Marker</i>	63
<i>Tabelle 15: Übersicht über die Ergebnisse der QTL-Berechnungen nach der Feinkartierung</i>	68
<i>Tabelle 16: Die für die Feinkartierung verwendeten Primerpaare</i>	ii
<i>Tabelle 17: Übersicht über die Ergebnisse der QTL-Analysen</i>	vii
<i>Tabelle 18: Darstellung der QTL im Vergleich zwischen IM und MQM</i>	xvii

ZUSAMMENFASSUNG

Die Rebenkrankheit Schwarzfäule wird durch den Pilz *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala und Ravaz hervorgerufen. Die ursprünglich nur in Nordamerika vorkommende Rebenkrankheit, wurde mit Rebmaterial nach Europa eingeschleppt. In den deutschen Weinanbaugebieten war sie bislang weitgehend unbedeutend und trat nur regional begrenzt epidemieartig auf. Seit 2002 wird jedoch ein verstärkter Schwarzfäulebefall vor allem im Anbaugebiet Mosel beobachtet, der teils erhebliche Schäden verursacht (Lipps und Harms 2004). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden verschiedene Resistenztests etabliert, um die Resistenzeigenschaften von Kreuzungseltern sowie einer Nachkommenschaft und weiterer Genotypen zu ermitteln. Der Resistenztest an Topfreben im Klimaraum führte zu den verlässlichsten Resultaten. Zur Charakterisierung des Resistenzgrades der Genotypen wurden neun verschiedene Bonitursysteme entwickelt, von denen sich ein 5-Klassensystem als das geeignetste für die nachfolgenden QTL-Analysen erwies. Mikroskopische Untersuchungen hinsichtlich der Sporenkeimrate und Appressorienbildung lieferten zusätzlich eine qualitative Aussage bezüglich der Resistenz.

Für die Identifikation und genetische Kartierung von Resistenzloci in der für die Schwarzfäule resistenten Unterlagssorte und Arthybride 'Börner' wurde die für dieses Merkmal aufspaltende Kreuzungspopulation V3125 ('Trollinger' x 'Riesling') x 'Börner' (*V. riparia* Gm183 x *V. cinerea* Arnold) eingesetzt. Auf Basis der phänotypischen Evaluierung einer 202 Pflanzen umfassenden F1-Population und der vorhandenen genetischen Karte (Zhang et al. 2009) erfolgten QTL-Berechnungen, mit denen Resistenzloci im Genom lokalisiert wurden. Nahezu alle Berechnungen führten zu einem Haupt-QTL auf dem Chromosom 14 (*Rgb1*), der bis zu 21,8% der Merkmalsausprägung erklärt. Dieser Locus wurde durch die Entwicklung eng gekoppelter Marker von 13,1 cM auf 1,6 cM eingengt. Der dazu im Referenzgenom PN40024 korrespondierende Genombereich entspricht 287 kb, in dem mehrere Kandidatengene für Resistenz lokalisiert sind. Ein weiterer QTL (*Rgb2*) wurde reproduzierbar auf Chromosom 16 ermittelt. Dieser erklärt etwa 7-8% der Variabilität der Merkmalsausprägung.

Durch zusätzliche Resistenztests an ausgewählten Weinreben wurden die Sorten 'Felicia', 'Merzling' und 'Villard Blanc' sowie der Zuchtstamm Gf.Ga-47-42 als neue wichtige Resistenzträger identifiziert.

1 EINLEITUNG

1.1 Züchtung im Weinbau und neue Technologien

Die Kulturrebe (*Vitis vinifera* L. supsp. *vinifera*) gehört als Unterart zur einzigen endemischen Art der Gattung *Vitis* in Europa (This et al. 2001) und wird aufgrund ihrer besonders guten geschmacklichen Eigenschaften zur Herstellung von Saft, Wein und Tafeltrauben genutzt. Weltweit sind fast 98 % der Weinanbaufläche mit ihr bepflanzt (Velasco et al. 2007). Der Anbau der Weinrebe *Vitis vinifera* erfolgt bereits seit Jahrtausenden (Michel et al. 1993) und besitzt eine große ökonomische und kulturelle Bedeutung. Im Jahr 2011 wurden weltweit auf 7,8 Mio. Hektar Anbaufläche zwischen 264,3 und 275,2 Mio. Hektoliter Wein produziert (OIV 2011). Zusätzlich werden auf den Rebflächen Tafeltrauben und Trauben für die Saftproduktion angebaut.

Seit den Anfängen des Weinbaus wurde eine Verbesserung der Qualität und der Ertrageigenschaften der Reben vorangetrieben. Dazu gehört insbesondere auch der Schutz der Pflanzen vor den Schädlingen, die seit dem 19. Jahrhundert durch die Einschleppung des Echten Mehltaus (Erreger: *Erysiphe necator*) im Jahr 1845, der Reblaus (*Daktulospaira vitifoliae*) im Jahr 1863 und des Falschen Mehltaus (Erreger: *Plasmopara viticola*) im Jahr 1878 für den europäischen Weinbau zwingend erforderlich wurde. Gegenüber diesen Krankheitserregern ist die europäische Kulturrebe hoch anfällig (Töpfer et al. 2011).

Viele amerikanische Wildarten besitzen hingegen Resistenzeigenschaften gegenüber diesen Schaderregern (Eibach et al. 2010; Hedrick 1908) und werden daher für die Züchtung resistenter Weinreben eingesetzt (Eibach 1991). Bekannte Resultate solcher züchterischer Anstrengungen sind beispielsweise die neuen Sorten 'Calandro', 'Felicia', 'Reberger' und 'Regent'. In der klassischen Züchtung werden die Nachkommen anhand ihres Phänotyps selektiert. Die Evaluierung ist jedoch sehr zeit- und kostenaufwendig und wird über mehrere Jahre wiederholt. Außerdem wird die Merkmalsausprägung durch

Umweltfaktoren beeinflusst. Genkartierung und QTL-Analyse (QTL: quantitative trait loci) haben sich daher als sehr nützliche Werkzeuge in der Züchtung erwiesen (Eibach et al. 2007). Mit ihrer Hilfe können die Nachkommen in frühen Entwicklungsstadien genetisch auf ihre ererbten Eigenschaften getestet werden (Lande und Thompson 1990; Töpfer et al. 2011). Die Selektion der Sämlinge erfolgt anhand von Markern, die mit den Genen, welche die jeweiligen Eigenschaften in ihrer Ausprägung bestimmen, gekoppelt vererbt werden.

Ein wichtiger Nachteil der Züchtung mit amerikanischen oder asiatischen Wildarten ist die schlechte Weinqualität der Nachkommen in den ersten Generationen. Zudem variieren andere weinbauliche Merkmale wie Beeren- und Traubengröße sehr stark. Daher sind nach der ersten Kreuzung mehrere Rückkreuzungen mit Kulturrebsorten notwendig, aus denen jeweils die Nachkommen selektiert werden, die wirksame Resistenzeigenschaften aufweisen und gleichzeitig eine gute Weinqualität sowie weinbauliche Eignung besitzen. Diese Schritte benötigen aufgrund der langen Generationszeit der Rebe, sowie der komplexen Merkmale, 25 – 30 Jahre (Töpfer et al. 2011). Bei der Weinrebe werden Qualitätsmerkmale des Mosts durch die lange Juvenilphase erst nach vier bis acht Jahren erkennbar (Eibach et al. 2010). Durch den Einsatz der molekularen Marker mittels Marker-gestützter Rückkreuzung (MABC) wird erwartet, diesen Zeitraum um bis zu 10 Jahre zu verkürzen (Töpfer et al. 2011). Dies wird einerseits durch den Einsatz molekularer Marker bei der Auswahl der Kreuzungseltern, andererseits durch die Selektion der Nachkommen auf bestimmte Eigenschaften erreicht. Mithilfe der Marker-gestützten Selektion (MAS) lassen sich schneller und effizienter mehrere Eigenschaften beispielsweise Resistenzen gegen Pathogene in einer Kreuzungsnachkommenschaft kombinieren (Di Gaspero und Cattonaro 2010). Zugleich ist es möglich, mehrere unterschiedliche Resistenzgene in einer neuen Sorte zu pyramidisieren, da durch die Verwendung molekularer Marker ersichtlich wird, welche Resistenz bzw. welche Resistenzloci vererbt wurden (Eibach et al. 2007; Schwander et al. 2012).

Die Kombination unterschiedlicher Resistenzloci führt bei additiver Wirkung zu signifikant erhöhter Resistenzausprägung (Schwander et al. 2012). Zudem

erschwert eine Pyramidisierung die Adaption des Pathogens an die Resistenzmechanismen, wenn multiple Resistenzgene bezüglich desselben Pathogens eingekreuzt werden und damit möglicherweise zu langfristig stabiler Resistenz führen (Schwander et al. 2012). Durch resistente Sorten gelingt es, die enormen Ausgaben für Fungizide im Weinbau zu reduzieren und die Belastung der Umwelt zu minimieren (Fader 2002).

Die neuen pilzwiderstandsfähigen Sorten kommen mit bis zu 80% weniger Pflanzenschutzmitteln aus (Informationen zu Neuzüchtungen, Geilweilerhof; Töpfer und Eibach, persönliche Mitteilung) und sind dadurch wesentlich nachhaltiger im Anbau. Sie tragen vor allem im Bioweinbau dazu bei, dass bei einem reduzierten Pflanzenschutzmitteleinsatz dennoch sichere Erträge und gute Qualitäten erzielt werden (Heibertshausen et al. 2010). Eine Reduzierung des intensiven Pflanzenschutzmitteleinsatzes gegen die Mehltaukrankheiten führt jedoch dazu, dass Krankheitserreger, die bislang durch den Einsatz der Pflanzenschutzmittel ebenfalls mit erfasst wurden, wieder oder erstmalig massiv auftreten können. Dies gilt für heimische Pilzkrankungen, wie die Anthraknose (Erreger: *Elsinoe ampelina*) oder den Roten Brenner (Erreger: *Pseudopezicula tracheiphila*), genauso wie für eingeschleppte Krankheiten wie die Schwarzfäule (Lipps und Harms 2004). Zusätzlich wird das Auftreten von Pilzkrankheiten an Kulturpflanzen durch die veränderten klimatischen Bedingungen (Stichwort: Klimawandel) begünstigt (Maixner et al. 2007; Molitor 2009). Eine Aufgabe der Rebenzüchtung ist es daher, die Resistenzzüchtung hinsichtlich ihrer Zielsetzung um Resistenzen gegen Krankheiten wie die Schwarzfäule zu erweitern. Die moderne Resistenzzüchtung setzt daher auf die Erschließung neuer Resistenzquellen und die Entwicklung geeigneter molekularer Marker.

1.2 Die Rebenkrankheit Schwarzfäule

Die Rebenkrankheit Schwarzfäule wird durch den endoparasitischen Pilz *Guignardia bidwellii* (Ellis) Viala und Ravaz, Nebenfruchtform *Phyllosticta ampellicida* (Englem.) hervorgerufen und kann bei starkem Befall zu hohen Ernteaussfällen führen (Reddick 1911). Besonders gefährdet sind warme, feuchte Lagen, in denen wenig Wind auftritt. Nur bei starken anhaltenden

Regenereignissen und einer Blattnässedauer von mehr als 15 Stunden ist eine Infektion möglich (Müller et al. 1930). Der Ernteverlust schwankt je nach Witterungsverlauf zwischen 5 und 80 % (Jermini und Gessler 1996).



Abbildung 1: Schadbild der Rebkrankheit Schwarzfäule auf Beeren (links) und Blättern (rechts). Etwa 14 Tage nach dem Infektionsereignis bilden sich Nekrosen, die durch Pyknidien gekennzeichnet sind.

Der Pilz gehört zum Phylum der Ascomyceten, der Klasse der Dothideomycetes, der Ordnung Botryosphaerales und letztlich in die Familie der Botryosphaeraceae (Schoch et al. 2009). Das Pathogen ist ein hemibiotropher Endoparasit, der einen asexuellen und einen sexuellen Lebenszyklus durchläuft. Er überwintert in Fruchtmumien und bildet im Frühjahr Perithezien, in denen die sexuellen Ascosporen reifen. Diese verursachen die Primärinfektion auf jungen Blättern oder Beeren. Unter den beschriebenen Witterungsbedingungen erfolgt die Infektion. Etwa 14 Tage später sind auf den Blättern bräunliche Läsionen zu beobachten, die durch schwarze Pyknidien, die asexuellen Fruchtkörper, gekennzeichnet sind (Caltrider 1960; Hoffman et al. 2002; Luttrell 1946; Reddick 1911). Auch an infizierten Trieben oder Beeren sind Pyknidien zu finden, die sich kreisförmig ausbreiten, bis die befallenen Pflanzenteile vollkommen vertrocknet sind (vgl. Abbildung 1). In den Pyknidien werden asexuelle Sporen gebildet, die wiederum alle Teile der Pflanzen befallen können (Agrios 2005). Nekrosen treten überwiegend an Geweben auf, die während der Wachstumsphase befallen werden (Jabco et al. 1985). Die

Beeren werden nach dem Beginn der Beerenreife nicht mehr infiziert, was ein Indiz für eine Altersresistenz ist (Ferrin und Ramsdell 1977). Für eine erfolgreiche Infektion des Wirts durch den Schwarzfäuleerreger ist eine Anheftung der Konidien Voraussetzung (Kuo und Hoch 1996). Die Adhäsion der asexuellen Sporen wird durch das Benetzungsverhalten des Untergrundes bestimmt. Es liegt eine starke Korrelation zwischen der Keimungsrate und der Hydrophobie des Substrates vor (Shaw et al. 2006). Gleichzeitig hat das Vorhandensein von Ca^{2+} einen entscheidenden Einfluss auf das Auskeimen der Sporen. Wenn kein Ca^{2+} vorhanden ist und nicht über mechano-sensitive Ionenkanäle in die Spore gelangt, unterbleibt die Keimung (Shaw und Hoch 2000). Im Falle eines Auskeimens bildet sich ein Appressorium, durch welches der Pilz durch die Cuticula in das Blatt eindringt und zwischen den antiklinalen Zellwänden der oberen Epidermis wächst, bis die Zellen nach etwa 14 Tagen kollabieren (Luttrell 1946; Ullrich et al. 2009).

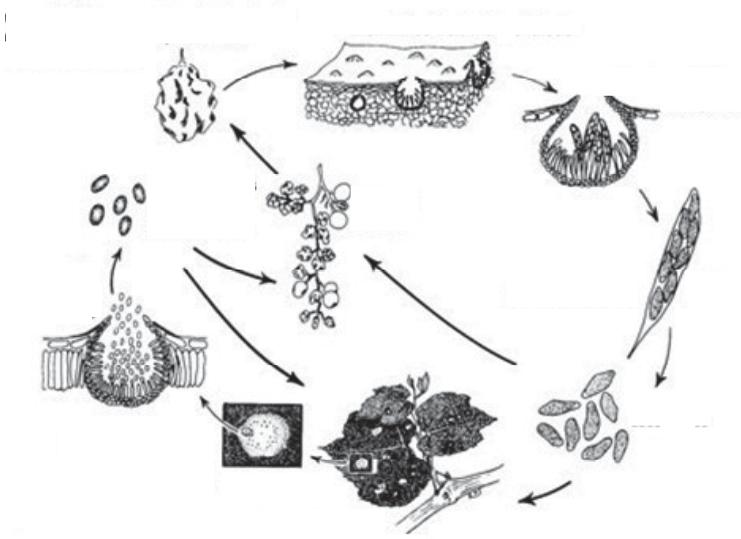


Abbildung 2: Der Lebenszyklus des Erregers der Schwarzfäule *Guignardia bidwellii*. Er überwintert in mumifizierten Beeren und bildet im Frühjahr Ascen, in denen die Ascosporen reifen. Diese befallen im Frühjahr junge Blätter oder Beeren. Auf den befallenen Pflanzenteilen entstehen Pyknidien. In diesen werden Konidien gebildet, die wiederum alle Teile der Rebe befallen können (Agris 2005).

Ursprünglich ist die 1804 erstmalig beschriebene Rebenkrankheit in Nordamerika beheimatet und wurde sehr wahrscheinlich mit Rebmaterial nach Europa eingeschleppt. In Frankreich wird sie seit 1885 beobachtet (Reddick 1911). In den deutschen Weinanbaugebieten war sie bislang weitgehend unbedeutend und trat nur sehr selten und regional begrenzt epidemieartig auf. Seit 2002 wird jedoch ein verstärkter Schwarzfäulebefall vor allem im Anbaugebiet Mosel beobachtet, der durch mehrjährig nicht bearbeitete Weinberge begünstigt wird und teils erhebliche Schäden verursacht (Lipps und Harms 2004).

Die zugelassenen Pflanzenschutzmittel gegen die Schwarzfäule gehören zu den Wirkstoffgruppen der Strobilurine, Triazole und Dithiocarbamate (Molitor 2009). Bislang sind jedoch nur wenige Mittel zugelassen und für den Ökoweinbau steht neben Pflanzenstärkungsmitteln lediglich Kupfer zur Bekämpfung der Schwarzfäule zur Verfügung. Der Einsatz von Kupfer ist jedoch umstritten bzw. wird er in Europa eventuell verboten werden (kupfer.jki.bund.de; Stand Mai 2012). Da zusätzlich generell die Gefahr der Resistenzbildung des Pilzes gegen Pflanzenschutzmittel besteht (Maixner et al. 2009; Molitor 2009), ist die Resistenzzüchtung durch Einkreuzen der Resistenzen gegen die Schwarzfäule eine Alternative zur dauerhaften Minimierung der Ernteverluste durch die Schwarzfäule.

1.3 Kartierung quantitativer Merkmale

Quantitative Merkmale werden durch mehrere Gene verschieden stark beeinflusst und werden daher auch polygen bedingte Merkmale genannt. QTL (Quantitative Trait Loci) sind Bereiche im Genom, die auf ein quantitatives Merkmal Einfluss nehmen (Schneider 2005). Diese Loci können miteinander in Wechselwirkung stehen, sodass ein vielschichtiges Gennetzwerk vorliegt (Epistasie). Die meisten Pilzresistenzeigenschaften und viele andere agronomische Merkmale sind quantitative Merkmale (Doligez et al. 2002).

Das Genom der Weinrebe trägt zahlreiche Gene, die mit Resistenzen in Verbindung gebracht werden (Velasco et al. 2007). Eine Vielzahl an QTL wurde bereits für Resistenzen gegen die beiden Mehltauerreger identifiziert und

gekoppelte molekulare Marker wurden entwickelt (Akkurt et al. 2007; Dalbó et al. 2001; Fischer et al. 2004; Marguerit et al. 2009; Moreira et al. 2011; Riaz et al. 2011; Schwander et al. 2012; Welter et al. 2007). Eine Übersicht findet sich auf www.vivc.de (unter „data on genetics and breeding“). Zahlreiche dieser Marker werden bereits erfolgreich für die Frühselektion und Kombination von Resistenzeigenschaften eingesetzt (Eibach et al. 2007).

Resistenzloci können mithilfe einer Kreuzungspopulation identifiziert werden, deren Parentaltypen für das betreffende Merkmal heterozygot sind und das in der Nachkommenschaft segregiert (Schneider 2005). Für jedes Individuum der Kreuzungspopulation werden parallel die Phänotypen mittels Resistenztests und die Genotypen mit molekularen Markern bestimmt. Aus den Markerdaten wird durch Kopplungsanalysen eine genetische Karte berechnet, die mit den phänotypischen Daten für QTL-Analysen eingesetzt wird. Die Berechnungen führen zu den Loci, die mit dem Merkmal korrelieren. Diese Loci werden durch ihre flankierenden Marker eingegrenzt und anschließend für vergleichende Genannotationen herangezogen (Moreira et al. 2011; Schwander et al. 2012).

Die Resistenz gegen die Schwarzfäule ist ein quantitatives Merkmal und die Ausprägung tritt nicht nur in zwei Formen, sondern in graduell variierenden Phänotypen auf (Mackay 2001). Für das Merkmal Schwarzfäuleresistenz wurden bereits QTL-Analysen von Dalbó (1998) durchgeführt. Die Studie erfolgte an einer Kreuzungsnachkommenschaft von 'Horizon' ('Seyval blanc' x 'Schuyler') x Illinois 547-1 (*V. rupestris* x *V. cinerea*). In dieser Population wurden vier QTL detektiert, unter anderem auf den Chromosomen 7 und 14. Andere QTL lassen sich keinem Chromosom zuordnen, da sie auf der Basis einer genetischen Karte mit RAPD-Markern ermittelt wurden. Die aktuell verwendeten Karten basieren jedoch auf SSR-Markern, weshalb eine Übertragung und Identifikation der Nummerierung der Chromosomen nicht in jedem Fall möglich ist. Dalbó stellte eine hohe Korrelation der QTL für Schwarzfäuleresistenz mit QTL für die Resistenz gegen den Echten Mehltau und der Synthese von Phytoalexinen fest. Da die Arbeiten unter anderen technischen Voraussetzungen bezüglich der Marker durchgeführt wurden, sind sie nur bedingt übertragbar, was ein Ableiten von molekularen Markern, die für

die MAS genutzt werden können, nicht ermöglicht. Deren Entwicklung ist daher das Ziel der vorliegenden Arbeit.

1.3.1 Die Kreuzungspopulation

Die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' wurde genutzt, um molekulare Marker zu entwickeln, die mit der Resistenz gegen die Schwarzfäule korrelieren. Der Zuchtstamm V3125 entstammt einer Kreuzung aus den beiden traditionellen Kultursorten 'Trollinger' und 'Riesling', die eine gute Weinqualität liefert, jedoch anfällig für die Schwarzfäule ist. 'Börner' ist eine Arthybride aus den beiden amerikanischen Wildarten-Akzessionen *Vitis riparia* Gm183 und *Vitis cinerea* Arnold und wird als reblausresistente Unterlagssorte genutzt (Hafner 1998; Schäller 1966). Beide Arten sind als Resistenzträger für die Schwarzfäule bekannt (Demaree et al. 1937). Die Population besteht aus 202 Genotypen, die auf dem Gelände des Instituts für Rebenzüchtung Geilweilerhof gepflanzt sind und neben der Kartierung des Merkmals Schwarzfäuleresistenz auch für die Kartierung anderer Loci, wie der Resistenz gegen die Reblaus (Zhang et al. 2009) oder Resistenzeigenschaften gegen die Mehltaukrankheiten (Fechter et al., in Vorbereitung) genutzt werden.

1.3.2 Phänotypisierung der Schwarzfäuleresistenz

Für die Beschreibung der Phänotypen werden in der Regel standardisierte Resistenztests genutzt. Für die Merkmale der Resistenz gegen einige Krankheitserreger im Weinbau liegen verschiedene Deskriptoren vor (OIV 2009). Diese wurden bereits umfangreich evaluiert und angewendet (Riaz et al. 2011; Schwander et al. 2012; Welter et al. 2007). Für Schwarzfäule wurden jedoch noch keine OIV-Deskriptoren etabliert.

Da die Schwarzfäule in der Vergangenheit eine geringe Beachtung fand, liegen für dieses Schadbild zudem keine standardisierten Testsysteme vor. Dalbó (1998) verwendete in Nordamerika ein Bonitursystem für Stecklinge, welches auf Barrett (1953) basiert und die Befallsstärke am Blatt in fünf Klassen von 0 für keine Infektion bis 4 für viele Läsionen mit vielen Pyknidien einteilt. In Europa wurde lediglich ein Bonitursystem von Molitor (2009) etabliert. Er

schätzte an den fünf jüngsten Blättern der infizierten Stecklinge das Verhältnis der befallenen Blattfläche zur gesamten Blattfläche.

Die grundlegende Aufgabe dieser Arbeit war es, einen Versuchsaufbau zu entwickeln, der es erlaubt, eine große Anzahl an Reben zeitgleich zu phänotypisieren. Eine Möglichkeit ist die Charakterisierung über Blattscheiben oder einzelne Blätter der Testpflanzen, eine andere die Verwendung von Topfreben. Die Alternative einer Bonitur im Freiland wird zusätzlich betrachtet. Dabei spielt das Bonitursystem eine wesentliche Rolle. Diese Bonituren müssen bezüglich ihrer Anwendbarkeit und ihrer Eignung für QTL-Analysen geprüft werden.

1.3.3 Molekulare Marker und genetische Karten

Die Weinrebe besitzt einen doppelten Chromosomensatz ($2n = 38$) und ihr haploides Genom ist rund 475 Mb groß (Lodhi und Reisch 1995) und wurde von Jaillon et al. (2007) sequenziert. Ferner ist bei dieser stark heterozygoten und genetisch sehr diversen Kulturpflanze die Inzuchtdepression deutlich ausgeprägt (Mullins et al. 1992). Da wiederholte Selbstungen bei *V. vinifera*-Sorten zu Inzuchtdepression und damit zu Nachkommen mit geringer Fitness führen, erfolgt die genetische Kopplungsanalyse nicht an einer F_2 -, sondern an einer F_1 -Kreuzungspopulation. Diese Kartierungsstrategie wird auch als Doppel-Pseudotestkreuzung bezeichnet, da vor der Kreuzung nicht bekannt ist, ob die Marker-Allele der Eltern homo- oder heterozygot sind (Grattapaglia und Sederoff 1994).

Verschiedene Vorgehensweisen, die sich durch die verwendeten molekularen Marker unterscheiden, ermöglichen es, genetische Karten auf der Grundlage der Häufigkeit von Rekombinationsereignissen zu erstellen (Jones et al. 1997; Nguyen und Wu 2005). Die Grundlage für die Erstellung einer genetischen Karte bilden die Vererbungsmuster, die sich aus der Meiose bei der Samenbildung ergeben. Orte im Genom werden als gekoppelt bezeichnet, wenn sie auf demselben Chromosom so nah beieinander liegen, dass sie bei der Meiose nicht oder nur selten durch Rekombinationsereignisse voneinander getrennt werden. Alle Loci, die auf demselben Chromosom lokalisiert sind

bilden eine Kopplungsgruppe (Grattapaglia und Sederoff 1994; Jansen et al. 2001).

Seit den 90er Jahren wird an der Entwicklung von Kopplungskarten der Weinrebe gearbeitet. Dafür wurden zunächst vorwiegend RAPD-Marker und AFLP-Marker genutzt (Dalbó et al. 2001; Lodhi et al. 1997).

Bei der RAPD-Methode wird polymorphe DNA zufällig vervielfältigt. Durch PCR-Amplifizierung mittels zufällig gewählter, kurzer Primersequenzen werden Fragmente synthetisiert, die durch Gelelektrophorese aufgetrennt werden und individuelle Bandenmuster zeigen. Diese erlauben die Erbsubstanz unterschiedlicher Individuen zu vergleichen, ohne diese im Detail zu kennen (Welsh und McClelland 1990; Williams et al. 1990).

Bei der AFLP-Methode (Vos et al. 1995) werden die Fragmente durch eine Restriktionsspaltung der DNA- vor der PCR-Amplifizierung erhalten. Die PCR erfolgt mit für die genutzten Adaptersequenzen spezifischen Primern. Diese Adaptersequenzen werden nach der Restriktionsspaltung der DNA mit den Restriktionsfragmenten ligiert. Zunächst erfolgt eine präselektive Amplifikation und im Anschluss eine selektive Amplifikation mit fluoreszenzmarkierten Primern. Aufgrund besserer Reproduzierbarkeit und einem hohen Polymorphiegrad der Fragmentlängen bedeutete diese Methode einen großen Fortschritt im Vergleich zur RAPD-Methode (Vos et al. 1995).

Aktuell werden bei der Weinrebe vorwiegend sogenannte Mikrosatelliten- bzw. SSR-Marker für die Erstellung von Kopplungskarten benutzt (Hearne et al. 1992). Es handelt sich dabei um PCR-basierte Marker, die Amplicons mit repetitiven Einheiten aus etwa zwei bis sechs Nukleotiden mit unterschiedlicher Zahl an Wiederholungen darstellen. Deren Längenpolymorphismus wird durch eine automatisiert durchgeführte, hochauflösende Kapillarelektrophorese ermittelt. SSR-Marker zeichnen sich durch einen hohen Polymorphiegrad aus und eignen sich daher besonders gut für Diversitätsstudien und Kartierungen (Thomas und Scott 1993). Eine herausragende Besonderheit der SSR-Marker ist die Möglichkeit, diese relativ einfach auf andere Kreuzungspopulationen der Weinrebe transferieren zu können (Arnold et al. 2002). Viele SSR-Marker sind innerhalb unterschiedlicher *Vitis*-Arten anwendbar.

Eine genetische Karte, die auf SSR-Markern basiert, wurde für die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' bereits veröffentlicht (Zhang et al. 2009) und bildet in der vorliegenden Arbeit die Grundlage für die Kartierung der Resistenz gegen die Schwarzfäule.

Zukünftig wird eine weitere Generation von neuartigen Markern für die Erstellung von Kopplungskarten und eine effizientere und kostengünstigere Marker-gestützte Selektion genutzt werden. Die sogenannten SNP-Marker detektieren einzelne Basenaustausche im Genom und werden die SSR-Marker ergänzen und auf lange Sicht womöglich ersetzen (Salmaso et al. 2004; Vezzulli et al. 2008).

1.3.4 QTL-Analysen und Sequenzierung

In genetischen Kopplungsstudien werden Korrelationen zwischen bestimmten Merkmalsausprägungen und molekularen Markern gesucht. Bereits Sax (1923) und Rasmusson (1933) zeigten, dass es bei der Vererbung von Merkmalen Korrelationen gibt. Solche Korrelationen werden gefunden, wenn ein QTL zusammen mit den flankierenden Marker-Allelen vererbt wird, also gekoppelt vorliegt (Jones et al. 1997). Durch ein Intervall Mapping (IM) wird die Wahrscheinlichkeit eines QTL für jeden Locus berechnet und als LOD-Wert angegeben (Lander und Botstein 1989), also als Logarithmus zur Basis 10. Überschreitet dieser Wert die Signifikanzgrenze wird eine Korrelation angenommen. Die Signifikanzgrenze wird durch einen Permutationstest mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 5 % bestimmt (Doerge und Churchill 1996). Die Region des QTL wird durch das Konfidenzintervall beschrieben: Ein Konfidenzintervall LOD-1 (der maximale LOD-Wert minus 1) bedeutet, dass mit einer Wahrscheinlichkeit von 80 % ein Faktor detektiert wurde, der die Merkmalsausprägung beeinflusst (Van Ooijen 1992), ein Konfidenzintervall LOD-2 bedeutet eine Wahrscheinlichkeit von 95 %. Die Methode des IM ist nur begrenzt einsetzbar, um QTL zu detektieren, die durch mehrere Gene oder Loci im Genom bestimmt werden. Sie können durch ein Multiple QTL Mapping (MQM) kartiert werden (Jansen 1992; Martinez und Curnow 1992). Marker im Bereich des durch IM ermittelten QTL werden dazu als Cofaktoren gesetzt und der QTL als „wahr“ angenommen. Für die folgenden Analysen stehen

anschließend wieder der Rest der Erklärung der Varianz zur Verfügung und es werden gegebenenfalls weitere QTL detektiert. Dies birgt jedoch die Gefahr, dass falsch-positive QTL detektiert werden und im Gegenzug reale QTL absorbiert werden. Zudem gilt auch hier wie beim IM, dass nicht alle QTL detektiert werden, wenn die Anzahl der QTL zu groß ist. Abhilfe leistet die Anwendung einer multiplen linearen Regressionsanalyse. Durch diese werden alle Marker als QTL angesehen und die Ergebnisse der Analysen werden eindeutig (Jansen 1993). Weiter führt die Anwendung eines Kruskal-Wallis-Tests, auch H-Test genannt, zu einer Absicherung der durch IM und MQM ermittelten Ergebnisse. Bei diesem parameterfreien statistischen Test wird durch eine Varianzanalyse getestet, ob unabhängige Stichproben hinsichtlich einer ordinalskalierten Variablen einer gemeinsamen Population entstammen, also ob die Merkmalsausprägung mit einem Marker signifikant korreliert (Kruskal und Wallis 1952).

Aus den Ergebnissen der QTL-Analysen werden die Loci, die mit Resistenzfaktoren gekoppelt sind, erfasst. Da diese QTL zunächst oft noch sehr ausgedehnt sind, schließt sich eine weitere Ergänzung durch zusätzliche SSR-Marker an. Dadurch verringert sich das Konfidenzintervall und es werden molekulare Marker entwickelt, die eng mit dem Merkmal gekoppelt sind. Besonders wertvoll für diese Arbeiten ist die öffentlich zugängliche Sequenz des Referenzgenoms der Rebe (Jaillon et al. 2007; Velasco et al. 2007).

Auch ist es möglich, diese Bereiche im Genom des Elternteils, der die Merkmalsausprägung bestimmt, also in diesem Fall des Resistenzdonors 'Börner', über eine BAC-Bank zu sequenzieren (Fechter et al. in Vorbereitung). Durch die Sequenzierung der betreffenden Abschnitte ist ein Vergleich der Sequenzen des Resistenzdonors mit dem Referenzgenom der Kulturrebe möglich. Es ist davon auszugehen, dass die Bereiche, die sich im Genom der Wildarten von der Sequenz der Kulturrebe unterscheiden, für die Resistenz verantwortlich sind. Diese Bereiche werden für Genannotationen genutzt und führen gegebenenfalls zu Kandidatengenen für Resistenzen. Für die Züchtung ist es von Vorteil, die Gene, die für die Resistenz verantwortlich sind, zu kennen. Einerseits werden die Sequenzen der Gene für die Entwicklung von

genspezifischen SNP-Markern verwendet. Andererseits werden aus den Kandidatengenen Rückschlüsse auf den zugrundeliegenden Resistenzmechanismus gezogen und der Züchter besitzt eine Kenntnis über den Mechanismus, der in der Neuzüchtung exprimiert wird. Dies ist wichtig bei der Pyramidisierung der Resistenzfaktoren, da nur eine Kombination unterschiedlicher Mechanismen eine wirkungsvolle Barriere darstellt.

1.4 Abwehrmechanismen der Rebe gegen Pathogene

Derzeit werden in der Rebenzüchtung multiple Resistenzen als Weg zur Verbesserung der Resistenz und zur Schaffung möglichst dauerhafter Resistenzen diskutiert (Töpfer et al. 2011). Dazu ist es wünschenswert unterschiedliche Resistenzmechanismen zu kombinieren. Die Erforschung von Kandidatengenen für Resistenzen beispielsweise solche, die in einem QTL gefunden wurden, ist eine effektive Methode, um eine enge Korrelation mit der Resistenz herzustellen. Für diese ist die Kenntnis der Gene, die in Abwehrmechanismen der Pflanzen involviert sind, unerlässlich.

Über die Abwehr des Erregers der Schwarzfäule liegen bislang nur wenige Untersuchungen vor. Bekannt ist, dass es eine Altersresistenz der Pflanzenorgane gibt. So werden beispielsweise nur junge, noch nicht vollständig entwickelte Blätter befallen (Ferrin und Ramsdell 1977). Auch eine zunehmende Blattbehaarung führt dazu, dass sich Konidien nur erschwert anheften und nicht in der Lage sind, Kontakt zum Wirt herzustellen (Kuo und Hoch 1996).

Weiter ist bekannt, dass die Rebe bei Schwarzfäulebefall mit einer physiologischen Adaptation reagiert. Die Akkumulation von Zuckern führt zu einem gebremsten Wachstum der Schwarzfäule. Dies hat zur Konsequenz, dass die Beeren ab dem Beginn der Traubenreife nicht mehr befallen werden (Salzman et al. 1998). Vermutlich führen die steigenden Zuckergehalte zunächst zu einem erhöhten Pilzwachstum. Ab bestimmten Konzentrationen führt der Zuckergehalt jedoch zu einer erhöhten Aktivierung und Stabilisierung der Expression von Genen und Proteinen, die bei der Pathogenabwehr von

Bedeutung sind. So werden Thaumatin-ähnliche Proteine und Chitinasen als Pilzabwehrproteine akkumuliert (Salzman et al. 1998)

Das Verteidigungssystem von Pflanzen greift auf verschiedenen Ebenen ein, nämlich beim Empfangen des Signals, an den Signalübertragungswegen und auf der Ebene der Signalantwort (Xing 2007). Verschiedene Klassen von R-Genen sind am Verteidigungssystem beteiligt: die LRR-Gene, die NBS-LRR-Gene, sowie *Pto*-Gene, die bereits für die Rebe nachgewiesen wurden (Di Gaspero und Cipriani 2003; Kortekamp et al. 2008). Die Proteine, die für den Empfang des Signals verantwortlich sind, besitzen eine extrazelluläre LRR-Domäne. Diese sind in der Lage Serin/Threonin Rezeptor-ähnliche Kinasen (RLK) zu aktivieren. Die RLKs starten durch Phosphorylierung eine Enzymkaskade, wodurch letztendlich Abwehrmechanismen induziert werden. Dieses Signal führt zu einer Resistenz der Pflanze (Bent und Mackey 2007; Xing 2007). Bei anfälligen Pflanzen sind Effektoren des Pathogens für eine Unterdrückung der Kaskade verantwortlich. Diese Effektoren werden bei resistenten Pflanzen jedoch wiederum abgewehrt. Dies geschieht beispielsweise durch eine Regulation über NBS-LRR-Gene (Di Gaspero et al. 2007). Fehlen diese, wurden sie verloren, modifiziert oder sind sie nicht pathogen-spezifisch, bleibt eine Resistenzantwort aus (Bent und Mackey 2007). *Pto*-Gene sind R-Gene im Cytoplasma ohne LRR-Motiv, die für die Transduktion und die Initiierung der Aktivierung einer Phosphorylierungskaskade einen Leucinzipper, ein NBS- und ein LRR-Motiv benötigen (Xing 2007).

Alle durch die Signalkaskade induzierten Gene führen in der Konsequenz zu Veränderungen der Zellphysiologie und des Stoffwechsels. Dazu gehört beispielsweise der programmierte Zelltod (HR, auch hypersensitive Reaktion genannt), die Produktion von reaktivem Sauerstoff, das Freisetzen von sekundären Pflanzenstoffen oder die Synthese von Phytoalexinen oder PR-Proteinen (Bent und Mackey 2007).

Für die Schwarzfäule sind die Abwehrmechanismen der Rebe jedoch nicht bekannt. Durch die Identifizierung von QTL, welche eine Resistenz bewirken ist es möglich, Resistenzloci vergleichend zum Referenzgenom zu untersuchen.

Zudem können über die Sequenzierung einer QTL-Region und der anschließenden Genannotation Hinweise auf Gene erhalten werden, die bei den Abwehrmechanismen eine Bedeutung besitzen. Ein laufendes Projekt im JKI zur Genomsequenzierung der Sorte 'Börner' bietet hierzu mittelfristig den Zugang (Fechter et al., in Vorbereitung).

1.5 Fragestellungen und Ziele der Arbeit

Das Ziel dieser Arbeit ist die Identifizierung der Loci aus 'Börner', die mit Resistenzen gegen die Schwarzfäule genetisch gekoppelt sind. Mit dem Wissen über Loci der Schwarzfäuleresistenz ist es der Rebenzüchtung möglich, diese im Zuchtverlauf zu berücksichtigen bzw. aktiv zu integrieren. Grundlage der Umsetzung dieses Ziels ist die Etablierung eines effizienten Resistenztests, um die Merkmalsausprägung für die Kreuzungseltern und jeden Nachkommen der Population zu ermitteln. Die Durchführung eines Resistenztests ist auf verschiedene Arten möglich weshalb verschiedene Testverfahren angewandt und evaluiert werden.

Auf der Basis der Phänotypisierung der Population mit den eingesetzten Testvarianten und der vorhandenen genetischen Karte (Zhang et al. 2009) erfolgen QTL-Berechnungen, mit denen die Loci im Genom, die für die Resistenz entscheidend sind, lokalisiert werden können. Anschließend wird die Markerdichte durch Entwicklung und Kartierung neuer Mikrosatelliten-Marker (SSR-Marker) unter Nutzung der *Vitis*-Genomsequenzen (Jaillon et al. 2007; Velasco et al. 2007) im QTL-Bereich erhöht. Die Frage nach den Resistenzmechanismen und Kandidatengen, welche die Resistenz bedingen, wird auf Basis mikroskopischer Untersuchungen bearbeitet und diskutiert. Zudem werden erste Evaluierungen an genetische Ressourcen auf der Suche nach weiteren Resistenzquellen gegen den Krankheitserreger vorgenommen, um die Entwicklung einer möglichst dauerhaften Resistenz gegen die Schwarzfäule im Rahmen der Rebenzüchtung zu erreichen.

2 MATERIAL UND METHODEN

2.1 Material

2.1.1 Das Pathogen *Guignardia bidwellii*

Für die Versuche wurde das Isolat Mo05 des Erregers der Schwarzfäule *Guignardia bidwellii*, welches 2005 im Gebiet Mosel isoliert wurde, verwendet (Molitor 2009). Dieses wurde vom Dienstleistungszentrum ländlicher Raum (DLR) Rheinpfalz, Neustadt a.d. Weinstr. zur Verfügung gestellt. Die verwendeten Methoden zur Kultivierung und Sporengewinnung gehen auf Caltrider (1960) und Jailloux (1992) zurück. Zudem wurde im Sommer 2010 ein weiteres *Guignardia bidwellii*-Isolat (Gf10) auf dem Gelände des Instituts für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Pfalz von der Sorte 'Regent' isoliert, kultiviert und verwendet.

2.1.2 Das Rebmaterial

2.1.2.1 Die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'

Die Kreuzungspopulation V3125 ('Trollinger' x 'Riesling') x 'Börner' (*V. riparia* Gm183 x *V. cinerea* Arnold) umfasst 202 Individuen, welche aus Kreuzungen der Jahre 1998 und 2001 am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof stammen. Die Reben sind im Freiland gepflanzt. Die einzelnen Genotypen der Population wurden vegetativ vermehrt und als Topfreben, die bis zu 50 cm hoch waren, für die Infektionsversuche verwendet.

2.1.2.2 *Vitis*-Arten und ausgewählte Sorten

Die Sorte 'Müller-Thurgau' wurde bei allen Versuchen als anfällige Kontrolle verwendet. Zudem wurden aus der Genbank des Geilweilerhofes verschiedene Sorten als Stecklinge und im Freiland stehende Rebstöcke für die Charakterisierung der Schwarzfäuleanfälligkeit verwendet. Sie sind in einer Übersicht in Tabelle 1 aufgelistet. Die Auswahl der Genotypen erfolgte unter verschiedenen Gesichtspunkten. Es wurden einerseits Genotypen ausgewählt, die auf *V. vinifera* zurückgehen und damit vermutlich anfällig für die Schwarzfäule sind, andererseits wurden auch Genotypen untersucht, in deren

Stammbaum Wildartenakzessionen vorkommen oder eine Resistenz in Literaturquellen beschrieben war. Gleichzeitig wurden Sorten in die Versuche einbezogen, die als Kreuzungseltern in weiteren Kreuzungspopulationen am Geilweilerhof verwendet wurden, um diese gleichzeitig auf ihre Eignung als weitere Kartierungspopulation zu überprüfen.

Tabelle 1: Übersicht über die verwendeten Sorten und Wildarten, sowie ihre Standorte am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof.

Genotyp	Standort
Black Rot Resistant 12	67-40-009
Black Rot Resistant 13	67-40-010
Black Rot Resistant 14	67-40-011
Black Rot Resistant 16	67-40-012
'Börner'	23-01-95
'Catawba'	23-04-25
'Chambourcin'	40-09-19
'Domina'	52-01-21-22
'Felicia'	41-16
Gf.Ga-47-42	Parzelle 65
Gf.Ga-52-42	Parzelle 64
'Isabella'	23-12-25
'Lemberger'	51-09
'Merzling'	67-45-005
'Müller-Thurgau'	52-02-15-16
'Pinot Blanc'	52-10-002
'Primitivo'	37-25
'Reberger'	41-1
'Regent'	51-12
'Riesling'	51-33
'Seyval blanc'	40-02-22
'Solaris'	51-36
'Trollinger'	51-15
<i>V. aestivalis</i>	67-43-100
<i>V. amurensis</i>	03-03-003
<i>V. cinerea</i>	03-02-013
<i>V. labrusca</i>	76-48-011

<i>V. riparia</i>	76-49-22
V3125	Parzelle 48
'Villard blanc'	40-06-10
'Villaris'	41-26

2.1.3 Geräte

Gerät	Hersteller
ABI 3130xl Genetic Analyzer	Applied Biosystems, Darmstadt
ABI 9700 Thermocycler	Applied Biosystems, Darmstadt
Drucksprühgerät Prima 5	GLORIA Haus- und Gartengeräte GmbH, Witten
Fluoreszenzmikroskop DM4000B	Leica, Wetzlar
Gefriertrocknung Beta 1102	Christ, Osterode
Kamera DFC420C	Leica, Wetzlar
Kugelmühle Tissue Lyser	Qiagen, Hilden
Liquidator ⁹⁶	Steinbrenner Laborsysteme, Wiesenbach
NanoPhotometer Pearl	Implen, München
Neubauer Zählkammer	Marienfeld, Lauda-Königshofen
PIPETMAN Neo®	Gilson, Middleton, Wisconsin
Pipettierroboter FasTrans	AnalytikJena, Jena
Vortex-Genie 2	Scientific Industries, Bohemia, NY
Zentrifuge 4K15	Sigma, Osterode

2.1.4 Chemikalien und Verbrauchsmaterial

Chemikalie/ Verbrauchsmaterial	Hersteller
0,5 und 1 Liter Glasflaschen	Schott AG, Mainz
0,5; 1,5 und 2,0 ml Reaktionsgefäße	Eppendorf, Hamburg
96er/384er PCR-Platten	Eppendorf, Hamburg
	Kisker Biotech, Steinfurt
Anilinblau, wasserlöslich	Merck, Darmstadt
Bacto-Agar	BD, Heidelberg
Chemikalien für die DNA-Extraktion	(Lemke et al. 2011)
Ethanol vergällt mit 1 % MEK	BASF, Nienburg Weser

Chemikalie/ Verbrauchsmaterial	Hersteller
Hafermehl	Kügler Mühle, Siebeldingen
Hakaphos® grün	Compo, Münster
Liz-Größenstandard	JKI Geilweilerhof
Milbeknock®	Spiess-Urania Chemicals GmbH, Hamburg
Natriumhypochloritlösung	Merck, Darmstadt
Nematoden, <i>Steinernema feltiae</i>	Katz Biotech AG, Baruth
Petrischale 94/16 PS m/Nocken	Paul Böttger OHG, Bodenmais
Primersynthese und 5'Fluoreszenzlabel	Metabion, Planegg-Martinsried
Tusche A	Pelikan Holding AG, Schindellegi, CH
Type-it® Microsatellite-Kit	Qiagen, Hilden

2.1.5 Software

Software	Hersteller
BioEdit 7	Ibis Biosciences, Carlsbad, CA, USA
Gene Mapper 4.0	Applied Biosystems, Darmstadt
JoinMap 4	Kyazma, Wageningen, NL
MapChart 2.2	(Voorrips 2002)
MapQTL 6.0	Kyazma, Wageningen, NL
SPSS 17.0	SPSS inc., Chicago, USA
WebSat	(Martins et al. 2009)

2.2 Methoden

2.2.1 *In vitro*-Kultur von *Guignardia bidwellii*

2.2.1.1 Herstellung des Nährmediums

Die Zusammensetzung des Nährmediums (OMA) für die Kultivierung von *Guignardia bidwellii* ist in Tabelle 2 nach Caltrider (1960) und Molitor (2009) beschrieben. Die einzelnen Bestandteile wurden in 1 Liter-Glasflaschen gegeben, autoklaviert und in Petri-Schalen ausgebracht.

Tabelle 2: Zusammensetzung des Nährmediums für die Kultur des Schwarzfäuleerregers (Molitor 2009).

Nährmedium	Zusammensetzung
	40 g Bio-Hafermehl
Hafermehl-Agar (OMA)	15 g Bacto-Agar
	1000 ml Aqua dest.

2.2.1.2 Passage und Propagation von *Guignardia bidwellii*

Die Passage des Pilzmaterials wurde in einem Turnus von 14 Tagen durchgeführt. Dazu wurde auf OMA kultiviertes Pilzmycel in etwa 0,5 cm² große Blöcke geschnitten und auf frischen OMA-Nährboden übertragen. Die Kultivierung erfolgte im Kulturraum bei Dauerbeleuchtung mit 50 % Schwarzlicht bei 25 °C.

2.2.1.3 Isolierung neuer Stämme und Blattpassagen

Um die Virulenz der gegebenen Stämme zu erhalten, wurden halbjährlich Blattpassagen des Erregers an Topfreben im Rahmen der Infektionsversuche durchgeführt. Für die Reisolation nach der Blattpassage und die Isolation des neuen Stamms Gf10 wurden Läsionen aus Blättern ausgeschnitten, oberflächensterilisiert, indem sie mit 10 %-iger Natriumhypochloritlösung abgespült wurden und auf frische OMA-Nährböden ausgebracht. Nach einer weiteren *in vitro*-Passage wurden die gewonnenen Isolate geerntet und die Konzentration der Konidiensuspensionen ausgezählt. Das Isolat mit der größten Sporulationsaktivität wurde weiter kultiviert. Die Isolate mit geringerer Sporulationsaktivität oder verunreinigte Isolate wurden verworfen.

2.2.1.4 Herstellung der Konidiensuspension

Die Sporengewinnung erfolgte zum Zeitpunkt der maximalen Sporenausbeute zwischen der zweiten und dritten Woche nach der Passage. Die Pilzkulturen wurden mit 10 ml Leitungswasser mindestens für 10 min benetzt. Anschließend wurden die gewonnenen Konidien abgegossen. Die Suspension wurde 10 min auf einem Magnetrührer gerührt, um ein Aneinanderhaften der Konidien zu

vermeiden. Mit einer Neubauer Zählkammer wurde anschließend die Konzentration der Sporen bestimmt. Für alle Versuche wurde eine Konzentration von 10^4 - 10^5 Sporen/ml verwendet. Durch Zentrifugation (5000 g für 3 min) und Resuspension des Sediments oder Verdünnung wurde die Konidiendichte auf die gewünschte Konzentration eingestellt. Für einen Versuchsdurchlauf mit 600 Topfreben wurden 4 l Konidiensuspension hergestellt.

2.2.2 Kultur der Topfreben

Von Reben im Zuchtweingarten des Geilweilerhofes wurden im Januar eines Versuchsjahres Holzruten geschnitten. Nach der Stratifikation (6 Wochen bei 4 °C) wurden 1-Augen-Stecklinge gepflanzt und zu Topfreben mit einer Höhe von etwa 50 cm angezogen. Die Pflanzen wurden unter Langtagbedingungen (16 h Beleuchtung) bei Temperaturen zwischen 25 und 28 °C kultiviert. Während der Versuchsdauer wurden die Pflanzen täglich manuell befeuchtet. Die Reben wurden vor dem jeweiligen Versuchsbeginn gedüngt und mit Milbknock® gegen Spinnmilbenbefall, sowie Nematoden gegen Trauermückenlarven behandelt. Nach Beendigung des Resistenztests wurden die Pflanzen zurückgeschnitten, sodass für die nächste Versuchsreihe frische und gesunde Triebe zur Verfügung standen.

2.2.3 Phänotypisierung des Resistenzverhaltens des Rebmaterials

2.2.3.1 Infektion von Rebmateriale

Bei allen künstlichen Infektionen wurde die Konidiensuspension mit einem Sprühgerät ausgebracht. Eine Topfrebe oder ein Trieb wurden mit etwa 10 ml Konidiensuspension infiziert. Die Inokulation der gesamten Kreuzungspopulation und der ausgewählten Sorten erfolgte demnach mit etwa 4 l Konidiensuspension. Um die Blattnässedauer zu verlängern, wurden alle künstlichen Inokulationen über Nacht inkubiert. Im Klimaraum wurde dazu die Luftfeuchte auf 95 % erhöht. Im Gewächshaus wurden je 6 Topfreben in einen handelsüblichen verschlossenen Kunststoff sack gestellt. Im Freiland wurden einzelne Triebe mit handelsüblichen Kunststoffsäcken verpackt (vgl. Abbildung 3). Die Temperaturen lagen bei allen Infektionen zwischen 25 und 30 °C.



Abbildung 3: Die Versuchsaufbauten zur Durchführung der Infektionsversuche. Die Reben wurden als Stecklinge in einem Klimaraum (links) und im Gewächshaus (Mitte) künstlich infiziert und unter Kunststofffolien inkubiert. Im Freiland wurden einzelne Triebe infiziert und in Kunststoffsäcken inkubiert (rechts).

2.2.3.2 Versuche zur Phänotypisierung des Resistenzverhaltens und deren Bonituren

Acht Versuche zur Phänotypisierung der Kreuzungspopulation wurden in den Jahren 2009 - 2011 unter unterschiedlichen Bedingungen durchgeführt. Diese sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Tabelle 3: Übersicht über die Versuche zur Resistenzevaluierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'. Aufgelistet sind die Benennungen, der Ort und der Zeitraum der Durchführung, sowie das verwendete Schwarzfäuleisolat.

Versuch	Ort	Zeitraum	<i>Guignardia bidwellii</i> Isolat
2010-GF-01	Freiland	2010	Natürliche Infektion
2009-KR-02		2009	Mo05
2010-KR-03		Juni 2010	Mo05
2010-KR-04		August 2010	Mo05 + Gf10
2010-KR-05	Klimaraum	September 2010	Mo05 + Gf10
2011-KR-06		März 2011	Mo05 + Gf10
2011-KR-07		Juni 2011	Gf10
2011-KR-08		Juli 2011	Gf10

Freiland

Im Versuchszeitraum 2010 wurde der natürliche Befall der Population im Freiland an zwei Pflanzen je Genotyp bonitiert (2010-GF-01). Die Bonituren wurden am 28.06.2010 und am 06.08.2010 durchgeführt. Bonitiert wurde in 4 Klassen (0 – 3) nach Jabco (1984) und einem 5-Klassensystem (Tabelle 5).

Klimaraum

Für den Versuch 2009-KR-02 wurden Teile der Population im August und September 2009 infiziert. Die Infektionen der Versuche 2010-KR-03-05 wurden jeweils am 14.06.2010, 10.08.2010 und 23.09.2010 durchgeführt. Die Infektionen der Versuche 2011-KR-06-08 wurden am 16.03.2011, 08.06.2011 und 28.07.2011 vorgenommen. Bei diesen Versuchen wurde jeweils das komplette Rebmateriale zeitgleich infiziert. Die Durchgänge 2009-KR-02 und 2010-KR-03 wurden nur mit dem Isolat Mo05 infiziert. Eine Mischung aus beiden Isolaten wurde in den Durchgängen 2010-KR-04, 2010-KR-05 und 2011-KR-06 verwendet. Die Durchgänge 2011-KR-07 und 08 wurden nur mit dem Isolat Gf10 infiziert.

Die erste Bonitur erfolgte 14 Tage nach der Infektion und eine zweite nach 21 Tagen. Betrachtet wurden je Topfrebe die 5 Blätter, die zum Zeitpunkt der Infektion am jüngsten waren. Die Bonitur erfolgte durch Schätzen der Befallsstärke in Prozent (das Verhältnis der befallenen Blattfläche zur Gesamtblattfläche). Von diesen Werten wurde zusätzlich der Wert des am stärksten befallenen Blatts (Maximalwert) notiert und anschließend separat in die QTL-Berechnungen eingegeben. Zudem wurde die Anzahl der befallenen Blätter (Werte zwischen 0 und 30), der Zeitpunkt der ersten Infektion, das Vorhandensein von Pyknidien und eine deutlich sichtbare Begrenzung der Läsion festgehalten. Weiterhin wurden die Pflanzen zur Evaluierung eines geeigneten Bonitursystems anhand drei verschiedener Systeme bewertet: (a) durch ein 4-Klassensystem nach Jabco (1984), (b) durch ein 5-Klassensystem und (c) durch ein binäres System. Außer den Prüfmerkmalen Befallsstärke und dem 4-Klassensystem wurden alle Boniturschemata im Rahmen der vorliegenden Arbeit entwickelt. Eine Übersicht über alle Boniturvarianten findet sich in Tabelle 4.

Tabelle 4: Übersicht über die verwendeten Schemata der Bonitur des Schwarzfäulebefalls. Aufgelistet sind das jeweilige Prüfmerkmal und die Beschreibung der Merkmalsausprägungen.

Prüfmerkmal	Beschreibung
Befallsstärke	Geschätzte befallene Fläche im Verhältnis zur gesamten Blattfläche (0 - 100%)
Wert des am stärksten befallenen Blattes	Maximalwert von 5 Werten. Geschätzte befallene Fläche im Verhältnis zur gesamten Blattfläche (0 - 100%)
Anzahl der befallenen Blätter eines Genotyps	Werte zwischen 0 und 30 Blättern
Zeitpunkt der ersten Symptome	Symptome nach 14, 21 Tagen oder keine Symptome
Vorhandensein von Pyknidien	Ja, nein oder keine Symptome
Begrenzung der Läsion	Ja, nein oder keine Symptome
System nach Jabco (1984)	Klassen von 0 - 3
5 - Klassensystem	5 Klassen: 9, 7, 5, 3, 1
Vorhandensein einer Infektion	Ja oder nein

2.2.3.3 Aufbereitung der Boniturdaten für die QTL-Berechnungen

Die Software MapQTL 6.0 benötigt für die Berechnungen einen Zahlenwert pro Genotyp. Deshalb wurden Bonitурwerte, wie beispielsweise Angaben zum Infektionsverlauf, entsprechend kodiert (vgl. Tabelle 5). Da innerhalb jedes Einzelversuchs für jeden Genotyp bis zu 3 Stecklinge und jeweils 5 Blätter betrachtet wurden, wurden mit dem Programm Excel 2007 (Microsoft) Mittelwerte und Summen der Datenpunkte je Genotyp errechnet.

Tabelle 5: Übersicht über die angewandten Boniturverfahren und ihre Aufbereitung für das Programm MapQTL. Dargestellt sind die jeweiligen Boniturdaten mit ihren Kodierungen und weiterführenden Berechnungen, um je Steckling einen Zahlenwert zu erhalten, aus denen der Mittelwert für den Genotyp gebildet wurde.

Boniturverfahren	Berechnung
Befallsstärke in %	Berechnet wurde der Mittelwert aus den Befallsstärken in % (maximal 15 Werte) und dann der Gesamtmittelwert der 3 Stecklinge
Maximalwert	Berechnet wurde der Mittelwert aus 3 Maximalwerten
Anzahl	Berechnet wurde der Mittelwert der Anzahl der befallenen Blätter (maximal 15) und dann aus den Werten der 3 Stecklinge der Mittelwert
Zeitpunkt der Symptome	Die Daten wurden kodiert: 1 = Bonitur 1 (14 Tage nach der Inokulation) 2 = Bonitur 2 (21 Tage nach der Inokulation) 3 = keine Symptome Aus diesen Werten wurde der Mittelwert je Genotyp gebildet
Pyknidien vorhanden	Die Daten wurden kodiert: 0 = keine Pyknidien 2 = Pyknidien vorhanden Aus diesen Werten wurde der Mittelwert je Genotyp gebildet
Läsionen	Die Daten wurden kodiert: 0 = kein Befall 1 = begrenzte Läsionen 2 = verschiedene Ausprägungen 3 = großflächige Läsionen Aus diesen Werten wurde der Mittelwert je Genotyp gebildet
Boniturnote nach Jabco (1984)	0 = Kein Befall 1 = Nekrosen 2 = Eine oder wenige Läsionen mit Pyknidien 3 = Mehrere Läsionen Aus diesen Werten wurden der Mittelwert und die Summe je Genotyp gebildet

Boniturverfahren	Berechnung
5-Klassensystem	9 = Kein Befall
	7 = Sehr kleine abgegrenzte Läsionen ohne Pyknidien
	5 = Eine Läsion mit Pyknidien (<1cm), einzelne Blätter sind befallen
	3 = Mehrere Läsionen mit Pyknidien, wenige Blätter sind befallen
	1 = Viele Läsionen oder große Läsionen mit Pyknidien, viele Blätter sind befallen
	Aus diesen Werten wurden der Mittelwert und die Summe je Genotyp gebildet
Binäres System	0 = Kein Befall
	1 = Befall
	Aus diesen Werten wurde der Mittelwert je Genotyp gebildet

Es wurden insgesamt 13 Datensätze generiert, um die phänotypischen Daten mit der genetischen Karte zu verrechnen. Zusätzlich zu den einzelnen Datensätzen für die Ergebnisse der Versuche 2010-GF-01 bis 2011-KR-06 wurden auch kombinierte Datensätze erstellt: Ein Datensatz, in den alle Versuche außer 2009-KR-02 einfließen (Gesamt), drei isolatspezifische Datensätze (Mo05, Mo05+Gf10, Gf10), sowie ein Datensatz, welcher die Ergebnisse der Versuche 2010-KR-03 – 2011-KR-08 umfasst (Gesamt KR). Für diese Datensätze wurde der Mittelwert aus den jeweiligen Einzelwerten gebildet.

Die Daten wurden mit der Software SPSS 17.0 statistisch ausgewertet. Überprüft wurde das Vorliegen einer Normalverteilung nach Kolmogorow-Smirnow und deskriptiv durch einen Q-Q-Plot. Zusätzlich wurden die Ergebnisse aus einzelnen Versuchen stichprobenartig mit einem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang-Test bei $\alpha = 0,05$ verrechnet.

2.2.3.4 Versuche an einzelnen Blättern und Blattscheiben

Infektionen von Blattscheiben und einzelnen Blättern wurden an anfälligen Sorten wie 'Müller-Thurgau', 'Regent' oder 'Reflex' durchgeführt. Alle aufgelisteten Versuchsvarianten wurden sowohl mit ganzen Blättern als auch mit Blattscheiben durchgeführt. Die Blattscheiben wurden mit Edelstahl-Korkbohrern ($\varnothing = 12$ mm) ausgestanzt und auf Wasseragar in Petrischalen ausgebracht. Es wurde ein 0,6 %-iger Wasseragar verwendet. Für die Versuche mit ganzen Blättern wurden junge Blätter verwendet, die mit dem Stiel mit Wasseragar oder Wasser in Kontakt waren. Die Versuche mit ganzen Blättern wurden nicht nur in Petrischalen, sondern auch in Reagenz- und Weckgläsern durchgeführt. Für die Versuchsaufbauten, bei denen lediglich Wasser verwendet wurde, wurden die Blätter entweder auf ein Gitter in einer Plastikkiste ausgelegt oder in 1,5 ml Eppendorf Reaktionsgefäße gesteckt (vgl. Abbildung 4). Infiziert wurden die Blätter und Blattscheiben mit Sporensuspensionen, wie sie auch für die Versuche an Topfreben verwendet wurden.

In allen Versuchsvarianten wurden in aufsteigender Reihenfolge verschiedene Mengen an Sporensuspension aufgetragen (0-100 μ l in 10 μ l-Abständen). Da Calcium-Ionen essentiell für die Keimung der Konidien sind (Shaw und Hoch 2000) wurde den Sporensuspensionen in weiteren Versuchen 1 – 10 μ l 50 mM CaCl_2 oder eine Ca^{2+} -EDTA/Hepes-Pufferlösung (pH = 8,5) zugefügt. Alle Versuche wurden ebenfalls in Varianten mit leichten Verletzungen der Blätter durch Stecknadeinstiche wiederholt, um das Eindringen des Pathogens in das Blatt zu erleichtern.

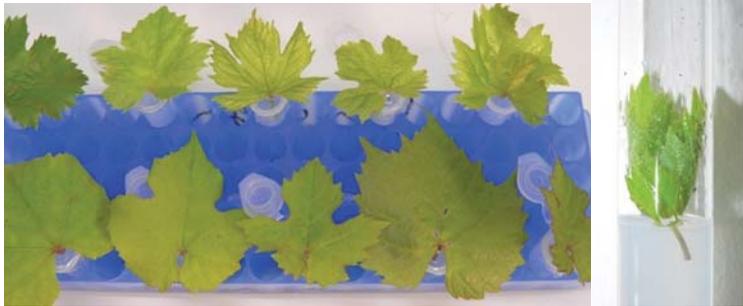


Abbildung 4: Blattkulturen für Infektionsversuche mit *Guignardia bidwellii*. Die Blattstiele waren entweder mit Wasser oder mit Wasseragar in Kontakt. Rechts ist die Versuchsvariante in einem Reagenzglas und links die Variante mit 1,5 ml Reaktionsgefäßen dargestellt.

Zusätzlich wurde ein Versuchsaufbau nach OIV-Descriptor 458 „Resistenz gegen *Botrytis* am Blatt“ (Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, 2009) auf die Anwendbarkeit bei Schwarzfäule getestet (vgl. Abbildung 5). Dazu wurden in die Blätter mit einem Edelstahl-Korkbohrer Löcher gestanzt ($\text{Ø} = 0,5 \text{ cm}$). Die Blätter wurden auf einem Gitternetz ausgelegt, welches in einer mit Wasser gefüllten Schale stand. Somit hatten die Blattstiele mit dem Wasser Kontakt. Auf die ausgestanzten Löcher wurden Mycelstücke ($\text{Ø} = 0,7 \text{ cm}$) der *in vitro*-Schwarzfäulekultur gelegt.



Abbildung 5: Versuchsaufbau zur Infektion der Blätter mit Mycel von *Guignardia bidwellii* in Anlehnung an OIV-Descriptor 458 (OIV 2009) für *Botrytis*.

2.2.4 Lichtmikroskopische Untersuchungen

Tuschenachweis

Das Mycel wurde von OMA-Nährboden entnommen und auf einen Objektträger übertragen. Zunächst wurde ein Wassertropfen aufgetragen und anschließend Tusche hinzugegeben. Die Betrachtung erfolgte mit dem Fluoreszenzmikroskop und anschließender Photodokumentation.

Qualitative Resistenzevaluierung auf Blättern

Die Probenahme für die mikroskopischen Untersuchungen erfolgte im Rahmen der Infektionsversuche im Klimaraum. Die verwendeten Stecklinge wurden wie unter 2.2.3.1 beschrieben infiziert und inkubiert. Die Probenahme erfolgte 1, 4 und 8 Tage nach der Infektion (dpi). Entnommen wurden einzelne zum Zeitpunkt der Infektion junge Blätter. Die Blätter wurden in vergälltem Ethanol (96 Vol %) mind. 3 Tage entfärbt und bis zu den mikroskopischen Betrachtungen bei Raumtemperatur aufbewahrt.

Die farblosen Blätter wurden mit Anilinblau mindestens 45 Minuten angefärbt und anschließend mit H₂O abgespült. Für die Betrachtung mit dem Fluoreszenzmikroskop wurden an den Blatträndern Teile des Blatts mit einem Skalpell herausgeschnitten und auf einen Objektträger überführt. Die Dokumentation erfolgte photographisch. Die Keimrate und die Anzahl der gebildeten Appressorien wurden in Prozentangaben hochgerechnet. Um eine quantitative Resistenzevaluierung durchzuführen, wurde das folgende Testsystem etabliert.

Quantitative Resistenzevaluierung auf Blattscheiben

Die verwendeten Blätter wurden von Topfreben entnommen. Dabei wurden nur junge, noch nicht vollständig entwickelte Blätter verwendet. Aus diesen wurden mit einem Korkbohrer Blattscheiben ausgestanzt ($\varnothing = 12$ mm) und in Petrischalen auf 0,6 %-igem Wasseragar ausgelegt. 10 μ l der Konidien suspension wurden in der Mitte der Blattscheiben aufgetragen und die Blattscheiben ohne Licht bei 23 °C inkubiert. Es wurden 2 Varianten durchgeführt. In Variante 1 wurden die Blattscheiben bereits nach 6 Stunden

entnommen (6 hpi) und in Variante 2 nach 21 Stunden (21 hpi). Die Blattscheiben wurden mit vergälltem Ethanol entfärbt und anschließend mit Anilinblau wie oben beschrieben angefärbt. Unter dem Mikroskop wurden jeweils 100 Konidien in der Mitte der Blattscheiben ausgezählt. Festgehalten wurden die Anzahl der Konidien und die Anzahl der gekeimten Sporen. Von letzteren wurde die Anzahl der Konidien, die Appressorien gebildet haben, separat festgehalten.

2.2.5 QTL- Analysen

Zur Bestimmung von QTL-Regionen wurde die genetische Karte mit den phänotypischen Daten verrechnet. Dazu wurde das Programm MapQTL 6.0 verwendet. Grundlage war eine genetische Consensus-Karte, die auf SSR-Markern basiert. Diese wurde für die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' bereits veröffentlicht (Zhang et al. 2009) und im Rahmen eines weiteren Projektes (Fechter et al., in Vorbereitung) ergänzt. Diese Daten wurden aus Gründen des Urheberrechts nicht in die vorliegende Arbeit aufgenommen. Die für diese Arbeit relevanten und im Rahmen dieses Vorhabens bearbeiteten Chromosomen 4, 14 und 16 sind im Anhang 1 abgebildet (vgl. Abbildung 16).

Berechnet wurden zunächst die LOD-Werte über das ganze Genom über IM. Dabei wurden QTL detektiert. Mit Hilfe ausgewählter Marker als Cofaktoren wurden im MQM die QTL-Bereiche besser aufgelöst. Die Signifikanzgrenzen wurden bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit von $p \geq 0,05$ über einen Permutationstest mit 1000 Wiederholungen bestimmt. In Fällen in denen die phänotypischen Daten nicht einer Normalverteilung entsprachen, wurden die QTL zusätzlich durch eine Kruskal-Wallis-Analyse mit $P = 0,01$ abgesichert. Mit diesem Test wird analysiert, welche Marker signifikant mit dem Merkmal korreliert sind.

2.2.6 Kartierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'

2.2.6.1 DNA-Extraktion

Von den für die molekularen Untersuchungen verwendeten Reben wurden etwa 1 cm² große Blattstücke in gekühlten 96er-Deepwell-Platten gesammelt. Diese wurden sofort bei -70 °C gefroren, lyophilisiert und das Blattmaterial mit einer

Kugelmühle zerkleinert. Die DNA wurde nach dem Protokoll von Lemke et. al. (2011) extrahiert. Die Konzentration wurde mit dem NanoPhotometer bestimmt und auf 1 ng/ μ l eingestellt.

2.2.6.2 Markerentwicklung

Ausgangsbasis für die Kartierungsarbeiten war die genetische Karte der Population V3125 x 'Börner' (Zhang et al. 2009). Diese war zwischenzeitlich hinsichtlich der Markerdichte verbessert worden, indem rund 200 weitere SSR-Marker kartiert worden sind (Fechter et al., in Vorbereitung). Die Verwendbarkeit der Primerpaare wurde in Vortests mit DNA der Eltern, der Großeltern und zehn Nachkommen überprüft. Segregierende Marker wurden auf die gesamte Population angewandt.

Zur weiteren Eingrenzung von QTL-Regionen wurden neue Marker entwickelt. Hierfür wurden ausgewählte Abschnitte des Genoms der veröffentlichten 12x Pinot Noir 40024-Sequenz (Jaillon et al. 2007) verwendet (www.genoscope.de). Diese wurden mit dem Programm WebSat (Martins et al. 2009) auf Mikrosatelliten untersucht. Voreingestellt wurde für das Primerdesign eine optimale Annealingtemperatur von 60 °C. Die erwartete Fragmentlänge variierte zwischen 80 und 400 bp. Über das in WebSat integrierte Programm Primer 3 (Rozen und Skaletsky 1998) wurden geeignete Primer generiert, auf die nach der Synthese das oben beschriebene Testverfahren angewendet wurde. Der jeweilige Vorwärts-Primer wurde mit einem von vier Fluoreszenz-Farbstoffen (Hex, Fam, Rox oder Tamra) markiert, um die Fragmentlängenbestimmung auf dem Kapillarsequenzierer im Multiplex-Verfahren durchführen zu können. Jeder abgeleitete Primer wurde zuvor auf dem Genoscope Blast-Server (http://www.genoscope.cns.fr/cgi-bin/blast_server/projet_ML/blast.pl) auf die Anzahl seiner Bindungsmöglichkeiten überprüft. Lediglich die Primer, die der gewünschten Position im Referenzgenom PN40024 entsprachen und keine weiteren Bindungsstellen aufwiesen, wurden synthetisiert (Metabion, Planegg-Martinsried) und experimentell getestet. Die entwickelten Primer sind im Anhang 2 aufgelistet (vgl. Tabelle 16). Benannt wurden die neuen Primerpaare nach einer institutseigenen Nomenklatur. Vorangestellt ist GF für Geilweilerhof, dann

folgt die Nummer des Chromosoms (z.B. 14 für Chromosom 14) und mit einem Bindestrich angehängt eine fortlaufende Nummerierung. Marker, die nicht vollständig informativ sind, erhalten durch einen Unterstrich angehängt zusätzlich die ausgewertete Fragmentlänge (z.B. GF19-05_298).

2.2.6.3 PCR

Die Amplifikation der Fragmente durch PCR erfolgte mit dem Qiagen Type-it[®] Microsatellite-Kit nach Anleitung des Herstellers in 10 µl Gesamtvolumen. Es wurden fluoreszenzmarkierte Primer (0,2 µM) sowie 1 µl Template-DNA (1 ng/µl) in die Reaktion eingesetzt. Die PCR startete mit einem fünfminütigen Aktivierungsschritt bei 95 °C. Der Amplifikationszyklus erfolgte durch eine Denaturierung bei 95 °C für 30 sec und dem Annealing bei 60 °C für 90 sec mit einem einminütigen Elongationsschritt bei 72 °C. Die Zyklen durchliefen 30 Wiederholungen. Beendet wurde die Amplifikation durch einen abschließenden 30-minütigen Elongationsschritt bei 72 °C.

2.2.6.4 Bestimmung der Fragmentlängen und Erstellung einer genetischen Karte

Die Längen der PCR-Fragmente wurden mit einem ABI-Kapillar-Sequenzierer unter Verwendung des POP7-Polymers bestimmt. Die Daten wurden mit dem Programm GeneMapper 4.0 ausgewertet.

Die Ergebnisse der Markeranalysen wurden für das Kartierungsprogramm JoinMap 4.0 entsprechend der Herstelleranweisung kodiert (vgl. Tabelle 6) und in die genetische Karte integriert. Diese wurde zusätzlich durch Daten, die in einem weiteren Projekt des Instituts generiert wurden, ergänzt (Fechter et al., in Vorbereitung). Die Segregation der Marker wurde mit dem Chi-Quadrat-Test überprüft. Marker mit zu hohen Werten, die nicht dem Aufspaltungsverhältnis entsprachen oder mehr als 40 % Fehlstellen wurden nicht in die genetische Karte integriert. Die Karte wurde unter Verwendung der Kosambi-Funktion (Kosambi 1944) erstellt, wobei ein LOD-Wert von 6 oder höher angenommen wurde.

Tabelle 6: Kodierung der Vererbungsmuster für die Genotypen der Rebenpopulation, um diese für das Programm JoinMap 4.0 zu verwenden.

Code	Segregationsmuster	Anzahl der informativen Allele	Aufspaltungsverhältnis der Nachkommen
<abxcd>	Der Locus beider Eltern ist heterozygot, alle Allele unterscheiden sich	vier	1:1:1:1
<efxeg>	Der Locus beider Eltern ist heterozygot, drei Allele unterscheiden sich	drei	1:1:1:1
<hkxhk>	Der Locus beider Eltern ist heterozygot, mit jeweils gleichen Allelen	zwei	3:1 oder 1:2:1
<lmxll>	Nur der mütterliche Locus ist heterozygot	eins oder zwei	1:1
<nnxnp>	Nur der väterliche Locus ist heterozygot	eins oder zwei	1:1

3 ERGEBNISSE

3.1 Anzucht von *Guignardia bidwellii*

3.1.1 Kultur des Pathogens

Als hemibiotropher Pilz kann *Guignardia bidwellii* auf der Wirtspflanze bei 25 – 27 °C und einer relativen Luftfeuchtigkeit von 95% oder auf künstlichem Nährmedium vermehrt werden. Zur Produktion von Inokulum bot sich die weniger aufwendigere und sicherere Kultur auf Hafermehlmedium nach Caltrider (1960) und Molitor (2009) an. Nach der Etablierung der Methode am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof wird der Pilz im 2-wöchigen Wechsel auf Hafermehlmedium kultiviert (vgl. 2.2.1.2) und es ist jederzeit möglich, Sporensuspension auch in großen Mengen für Versuche zu gewinnen. In den Untersuchungen wurde durch Reinfektionsversuche nachgewiesen, dass die Sporensuspension ohne Verlust der Keimfähigkeit bei 4 °C bis zu 14 Tage gelagert werden kann, was für Resistenztests die Versuchsdurchführung bei großen Probenumfängen erleichtert.

3.1.2 Verwendung verschiedener Isolate

Zu Beginn der Arbeiten stand das Isolat Mo05 zur Verfügung. Dieses erzeugt eine Sporendichte von etwa 10^4 Konidien/ml. Im Sommer 2010, ein günstiges Jahr für die Entwicklung des Pilzes im Freiland, wurde ein neues Isolat (Gf10) von der Sorte 'Regent' am Geilweilerhof gewonnen. Dieses bildet eine deutlich höhere Sporendichte von etwa 10^5 Konidien/ml. Durch die Verwendung von zwei verschiedenen Isolaten für die Phänotypisierung des Rebmaterials konnte zusätzlich die experimentelle Voraussetzung geschaffen werden, ein mögliches isolatspezifisches Resistenzverhalten frühzeitig zu erkennen.

3.2 Entwicklung der Resistenztests und Boniturschemata

Die Schwarzfäule war in Deutschland bis 2002 kein Problem in der Weinbaupraxis (vgl. 1.2) und wurde daher züchterisch nicht bearbeitet. Deshalb lagen zu Beginn der Arbeiten keine standardisierten Resistenztests und

Boniturschemata vor. Gleichzeitig stellte die vergleichende Bearbeitung von 202 Genotypen eine logistische Herausforderung dar. Die Entwicklung dieser Methoden ist ein zentrales Ergebnis, das zur besseren Verständlichkeit bereits unter Material und Methoden beschrieben wurde und im Folgenden nur kurz dargestellt wird. Zunächst wurden Bonituren an drei unterschiedlichen Versuchsorten (Klimaraum, Gewächshaus und Freiland) mit Stecklingen und Reben im Freiland der gleichen Sorten und Zuchtstämme erhoben (vgl. 2.2.3.2). Die Resultate sind unter 3.3.1 aufbereitet. Gleichzeitig wurde an Testsystemen gearbeitet, die ein Infizieren einer kompletten Pflanze durch die Verwendung von einzelnen Blättern oder Blattscheiben ersetzen (vgl. 2.2.3.4) sollten.

Standardisierte Untersuchungen zur Schwarzfäuleresistenz erfordern aufgrund spezifischer Infektionsbedingungen kontrollierte Umwelten. In nicht-klimatisierten Gewächshäusern oder im Freiland sind diese nicht gegeben. Versuche an Topfreben im Klimaraum haben hingegen gezeigt, dass es möglich ist, eine größere Anzahl bezüglich ihrer Schwarzfäuleresistenz zu evaluieren. Dementsprechend wurden die Infektionsversuche an der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner', die mit Wiederholungen zeitgleich mindestens 606 Reben umfasst, im Klimaraum durchgeführt. Basierend auf diesen Ergebnissen wurden die Bonitursysteme evaluiert (vgl. 3.4.2). Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden neun Bonitursysteme entwickelt (vgl. Tabelle 4). Die Evaluierung dieser erfolgt unter 3.4.3 und 3.6.

Da sich bei Resistenzevaluierungen auch die Frage nach dem Resistenzmechanismus stellt, wurden lichtmikroskopische Untersuchungen an Blattmaterial von inokulierten Stecklingen durchgeführt, die unterschiedliche Entwicklungen von *Guignardia bidwellii* auf resistenten und anfälligen Genotypen aufzeigen (vgl. 3.5.2). Dadurch ergab sich die Planung eines Resistenztests auf Blattscheiben mit einer quantitativen Auswertung unter Verwendung eines Mikroskops (vgl. 3.5.3).

3.3 Resistenzevaluierung der genetischen Ressourcen und Sorten

3.3.1 Versuche an Topfreben und an Freilandreben

Neben den Phänotypisierungen der Kreuzungspopulation im Klimaraum wurden zeitgleich 30 Rebsorten und *Vitis*-Akzessionen mit je drei Pflanzen pro Genotyp infiziert (vgl. 2.2.3.1) und nach dem 5-Klassensystem bonitiert. Die Ergebnisse aus den drei unabhängigen Versuchsreihen März, Juni und Juli 2011 sind in Tabelle 7 aufgelistet. Auffällig ist dabei die Tendenz, dass die Pflanzen durch wiederholtes Infizieren anfälliger zu werden scheinen. Deutlich ist dies bei den verwendeten Pflanzen der Sorte 'Chambourcin' zu sehen. Wurden die Pflanzen im März 2011 noch mit der Note 9 als resistent bewertet, zeigten sie im Juli einen starken Befall und wurden als sehr gering resistent bewertet.

Tabelle 7: Die Boniturnoten der im Klimaraum infizierten Rebsorten und *Vitis*-Arten. Angegeben sind die jeweiligen Boniturnoten (1 = anfällig – 9 = resistent) aus den Versuchen März, Juni und Juli 2011. Eine Vielzahl von Stecklingen war für die Versuche im März noch nicht verfügbar, Stecklinge anderer Sorten waren im Verlauf der Versuche ausgefallen (*).

Genotyp	März 2011	Juni 2011	Juli 2011
'Börner'	9	9	9
'Catawba'	*	8	6
'Chambourcin'	9	8	2
'Domina'	*	6	1
'Felicia'	*	9	9
'Isabella'	*	9	8
'Lemberger'	*	8	1
'Merzling'	*	9	9
'Müller-Thurgau'	5	5	4
'Pinot blanc'	7	*	*
'Primitivo'	*	8	1
'Reberger'	*	6	1
'Regent'	3	7	4
'Riesling'	*	7	4

'Seyval Blanc'	*	9	9
'Solaris'	4,3	*	*
'Trollinger'	*	8	2
'Villard Blanc'	*	9	*
'Villaris'	*	9	8
Black Rot Resistent 12	8,5	9	*
Black Rot Resistent 13	8,3	9	9
Black Rot Resistent 14	7	*	*
Black Rot Resistent 16	9	9	9
Gf.Ga-47-42	7,5	9	*
Gf.Ga-52-42	*	8	3
<i>V. aestivalis</i>	*	7	4
<i>V. cinerea</i>	*	9	9
<i>V. labrusca</i>	*	9	7
<i>V. riparia</i>	*	9	9
V3125	1	5	5

Dreizehn Sorten und *Vitis*-Akzessionen wurde auch im Gewächshaus infiziert. Sie sind in Tabelle 8 mit den jeweiligen Boniturnoten 14 und 21 Tage nach der Inokulation aufgelistet. Grundsätzlich ist es durch die Verwendung von Kunststofffolien zur Erhöhung der Luftfeuchte möglich, Reben im Gewächshaus zu infizieren, da so die Blattnässedauer ausreichend verlängert wird.



Abbildung 6: Mit *Guignardia bidwellii* inokulierte Topfreben im Gewächshaus (links) und typische Schadsymptome an einer infizierten Pflanze (rechts).

Ein großer Teil der unter Gewächshausbedingungen charakterisierten Sorten wurden auch im Freiland artifiziell infiziert. Die jeweiligen Boniturnoten sind in Tabelle 9 aufgelistet. In übereinstimmenden Resultaten weisen die Sorten 'Felicia', 'Merzling', 'Villard Blanc' und der Zuchtstamm Gf.Ga-47-42 Resistenzen gegen die Schwarzfäule auf.

Tabelle 8: Ergebnisse der im Gewächshaus infizierten Sorten. Angegeben sind die Sorten und die Ergebnisse der Bonituren (1 = anfällig; 9 = resistent) nach 14 und 21 Tagen.

Genotyp	14 dpi	21 dpi
'Catawba'	9	5
'Lemberger'	3	1
'Merzling'	9	5
'Primitivo'	3	3
'Reberger'	7	1
'Seyval Blanc'	9	7
'Solaris'	9	5
'Trollinger'	1	1
'Villard Blanc'	9	7
'Villaris'	9	3
Gf.Ga-47-42	9	7
Gf.Ga-52-42	1	1
<i>V. labrusca</i>	9	3

Tabelle 9: Übersicht über die verwendeten Sorten und deren Boniturergebnisse nach künstlichen Infektionen im Freiland (vgl. 2.2.3.1).

Sorte/ Zuchtstamm	Boniturnote
'Felicia'	7
'Lemberger'	1
'Merzling'	9
'Müller-Thurgau'	1
'Primitivo'	3
'Reberger'	3
'Regent'	3
'Trollinger'	1

Sorte/ Zuchtstamm Boniturnote

'Villard blanc'	7
'Villaris'	5
Gf.Ga-47-42	9
Gf.Ga-52-42	3

Die an allen drei Versuchslokalitäten künstlich infizierten und mit dem 5-Klassensystem bonitierten Sorten wurden in Tabelle 10 mit den jeweiligen Boniturnoten nebeneinandergestellt. Zusätzlich ist der Mittelwert angegeben. Die Ergebnisse liefern unabhängig von dem Ort des Versuches vergleichbare Werte. Somit sind die Sorten 'Felicia', 'Merzling', 'Villard Blanc' und der Zuchtstamm Gf.Ga-47-42 resistent. Dagegen sind die Sorten 'Lemberger', 'Müller-Thurgau', 'Primitivo', 'Reberger', 'Trollinger' und der Zuchtstamm Gf.Ga-52-42 anfällig für Schwarzfäulebefall. Die Sorten 'Villaris' und 'Regent' besitzen eine mittlere Anfälligkeit.

Tabelle 10: Gegenüberstellung der Boniturergebnisse der Sorten im Freiland, aus zwei unabhängigen Wiederholungen im Klimaraum (KR) und im Gewächshaus. Zusätzlich wurde der Mittelwert aus den Einzelversuchen angegeben. Die Boniturnoten wurden von 1 = anfällig bis 9 = resistent vergeben. Fehlende Daten sind auf ungeeignetes Pflanzenmaterial zurückzuführen (*).

Sorte	Freiland- bonituren	KR Juni 2011	KR Juli 2011	Gewächs- haus	Mittel- wert
'Felicia'	7	7	9	7	7,50
'Lemberger'	1	3	1	1	1,50
'Merzling'	9	7	9	5	7,50
'Müller-Thurgau'	1	3	3	1	2,00
'Primitivo'	3	5	1	3	3,00
'Reberger'	3	3	1	1	2,00
'Regent'	3	5	5	*	4,33
'Trollinger'	1	3	1	1	1,50
'Villard blanc'	7	9	*	7	7,67
'Villaris'	5	5	7	3	5,00
Gf.Ga-47-42	9	9	*	7	8,33
Gf.Ga-52-42	3	3	3	1	2,50

3.3.2 Infektionsversuche an einzelnen Blättern

Mit den in 2.2.3.4 beschriebenen Methoden wurden an einzelnen Blättern *in vitro*-Infektionsversuche durchgeführt. Trotz mehrfacher Wiederholungen wurde kein Befall mit Schwarzfäule festgestellt. Die Versuche mit Wasseragar als Kultursubstrat der Blätter führten jedoch zu einem Befall durch Fäulnispilze. Durch die Verwendung von Wasser statt Wasseragar wurden die Blätter erst nach etwa 18 Tagen von Fäulnispilzen befallen. Dennoch konnte die Schwarzfäule in den Blättern nicht etabliert werden.

3.4 Resistenzevaluierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'

3.4.1 Erhebungen im Freiland

Die Reben, die in zwei benachbarten Parzellen aufgepflanzt sind, waren im Jahr 2010 flächendeckend befallen. Im Jahr 2011 war der Schwarzfäule-Druck in den betreffenden Parzellen dagegen sehr gering und der Befall konnte daher in diesem Jahr nicht erfasst werden.

3.4.2 Versuche an Stecklingen

Erste Versuche zur Phänotypisierung mit einer kleineren Anzahl an Topfreben wurden im Spätsommer 2009 durchgeführt, um Erfahrungen für die in der folgenden Vegetationsperiode anstehenden Großversuche zu sammeln und erste Daten zu erheben. An 60 Genotypen der Population V3125 x 'Börner' wurden Infektionsversuche vorgenommen, bei denen sich der gewählte Versuchsaufbau bewährte (vgl. Abbildung 6). Die Verwendung von drei Pflanzen je Genotyp sicherte die Charakterisierung eines Genotyps bezüglich seiner Anfälligkeit für Schwarzfäule ab. Die Bonituren im Jahr 2009 zeigten, dass die Nachkommen der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' bezüglich des Merkmals der Anfälligkeit bzw. Resistenz gegen Schwarzfäule segregieren. Demnach ist die Population für genetische Kartierungsuntersuchungen dieses Merkmals geeignet.

Sechs weitere unabhängige Versuchsreihen (2010-KR-03 bis 2011-KR-08) wurden in einem Klimaraum jeweils mit dem kompletten Rebmaterial von 202 F1-Individuen der Kartierungspopulation durchgeführt. Insgesamt wurden somit etwa 3600 Weinreben getestet (202 Genotypen x 3 Stecklinge pro Genotyp x 6 Versuchsreihen). Die Phänotypisierung erfolgte mit den in dem Vorversuch 2009-KR-02 erarbeiteten neun Boniturverfahren (Tabelle 4). Diese Datensätze bilden die Grundlage für die folgenden QTL-Berechnungen (vgl.3.6).

3.4.3 Evaluierung der Boniturschemata

Die Ausprägung von quantitativen Merkmalen innerhalb einer Population folgt in der Regel einer Normalverteilung. Dies stellt für eine aussagekräftige QTL-Analyse eine wichtige Voraussetzung dar. Die verschiedenen Phänotypisierungsdatensätze der Kartierungspopulation wurden daher zunächst auf den Grad der beobachteten Normalverteilung statistisch untersucht. Die Ergebnisse der Resistenzevaluierung der Kreuzungspopulation entsprachen jedoch nicht einer Normalverteilung. In Abbildung 7 ist beispielhaft in einem Normal-Q-Q-Plot das Testergebnis auf Normalverteilung für das Prüfmerkmal Befallsstärke in % des Datensatz 2010-KR-03 gezeigt. Im direkten Vergleich der Prüfmerkmale war festzustellen, dass sich die Ergebnisse bei Verwendung des 5-Klassensystems am stärksten einer Normalverteilung annäherten, da bei diesem Phänotypisierungsschema eine deutlich geringere Anzahl an Ausreißern beobachtet wurde (vgl. Abbildung 7, unten).

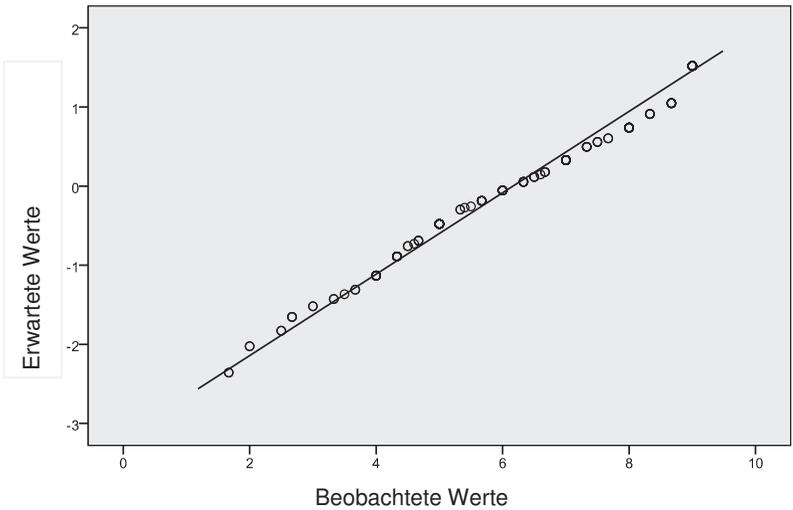
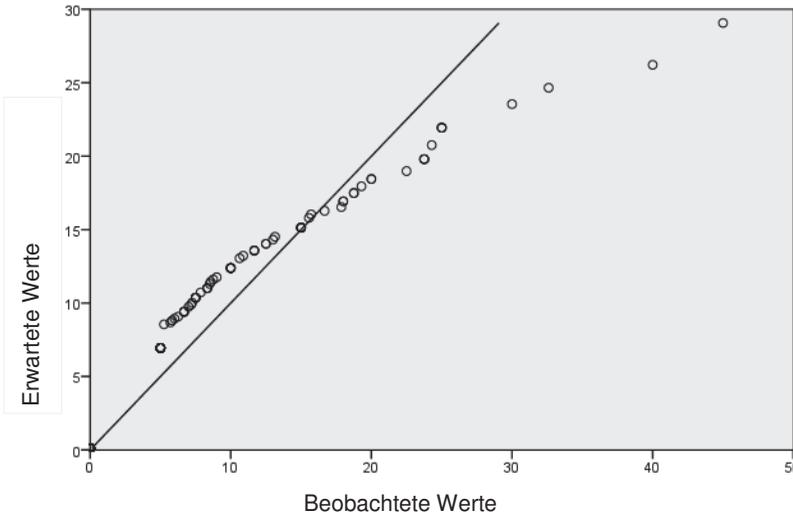


Abbildung 7: Beispiele der Normal-Q-Q-Plots. Das obere Diagramm zeigt das Ergebnis des Tests auf Normalverteilung auf der Grundlage des Datensatzes 03-KR-2010 und dem Prüfmerkmal Befallsstärke in %. Das Untere wurde auf Grundlage der Ergebnisse 08-KR-2011 und dem Prüfmerkmal 5 Klassen erstellt. Deutlich zu sehen ist, dass sich die Datenpunkte im unteren Diagramm der Gerade annähern und damit einer Normalverteilung eher entsprechen.

3.5 Lichtmikroskopische Untersuchungen

3.5.1 Morphologie von *Guignardia bidwellii*

Mit mikroskopischen Methoden wurden alle pilzlichen Entwicklungsstadien beobachtet, die für die Infektion relevant sind. Durch einen Tuschenachweis wurde der bereits von Kuo und Hoch (1995) beschriebene Schleim an Mycel von Nährböden beobachtet. Dieser kann im Gegensatz zu Wasser die Tusche nicht aufnehmen und setzt sich hell ab (vgl. Abbildung 8a). Die Hyphen (vgl. Abbildung 8b) und Konidien (vgl. Abbildung 8c) sind zusätzlich im Tuschenachweis an Mycel zu erkennen.

Inokuliertes Blattmaterial wurde aus den Infektionsversuchen an Stecklingen entnommen. Dieses wurde entfärbt und anschließend mit Anilinblau gefärbt (vgl. 2.2.4). So wurden durch lichtmikroskopische Untersuchungen an Pflanzenmaterial die Konidien und ihre Keimung, sowie die Appressorien (vgl. Abbildung 8d-f) photographisch dokumentiert. In Abbildung 9 sind einzelne Stadien der Entwicklung des Hyphennetzes im Blatt von *Guignardia bidwellii* in starker Vergrößerung dargestellt. Diese Bilder geben unabhängig vom Genotyp einen Überblick über den Entwicklungsverlauf und die Morphologie von *Guignardia bidwellii*.

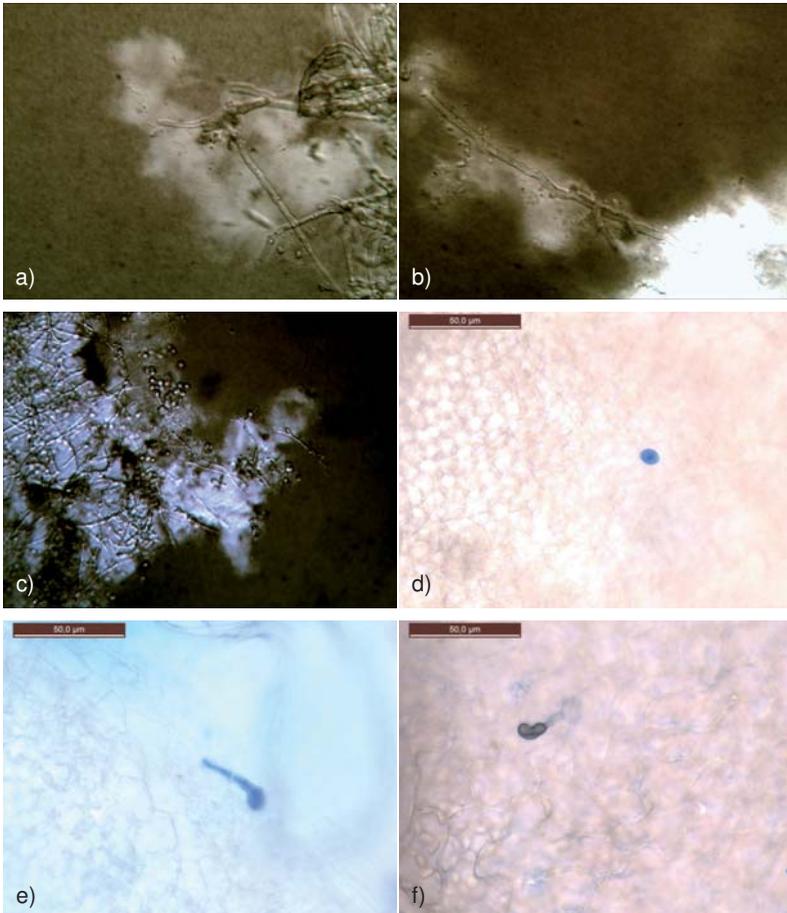


Abbildung 8: Übersicht über die Morphologie von *Guignardia bidwellii*. Zu sehen sind die Nachweise des das Mycel umgebenden Schleims mit Tusche (a-c), wobei sich der nicht gefärbte Schleim hell vom umgebenden Wasser mit gelösten Tuschepartikeln absetzt. Deutlich sind sowohl die Hyphen (b) und die Konidien (c) zu erkennen, wie sich diese bei der Kultur auf Hafermehlnährboden entwickeln. Die weiteren Aufnahmen nach Färbung mit Anilinblau auf Blattmaterial zeigen eine Konidie (d), eine ausgekeimte Konidie (e) und ein Appressorium mit der leeren Sporenhülle (f).

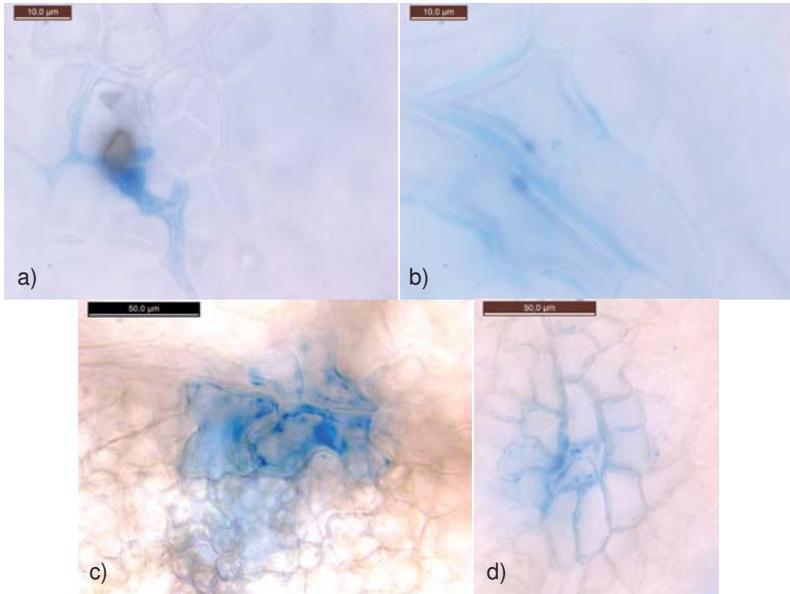


Abbildung 9: Verschiedene Entwicklungsstadien der Hyphennetze von *Guignardia bidwellii*. Zunächst dringt der Pilz über das Appressorium von der Blattoberseite in das Blatt ein (a) und bildet dort die ersten Hyphen. Diese wachsen zwischen den Zellwänden der Epidermiszellen (b), verzweigen sich und bilden größere Hyphennetze (c – d).

3.5.2 Qualitative Resistenzevaluierung an infizierten Blättern von Stecklingen ausgewählter Rebsorten

Das Blattmaterial wurde von infizierten Topfpflanzen entnommen. Nach dem Entfärben der Blätter wurden die pilzlichen Strukturen mit Anilinblau gefärbt (vgl. 2.2.4) und unter Verwendung eines Lichtmikroskops eine qualitative Evaluierung der Genotypen vorgenommen. Dies erfolgte durch ein Schätzen der Keimrate und der Anzahl der gebildeten Appressorien in Prozent. Es wurden zwei Wiederholungen der Versuche durchgeführt: die erste im Juli 2011, die zweite im September 2011.

Die folgenden Beobachtungen wurden in Abbildung 10 photographisch dokumentiert.

Bei der Sorte 'Müller-Thurgau' waren zum Zeitpunkt 1 dpi bis zu 90 % der Konidien von *Guignardia bidwellii*, die sich auf den Blattstücken befanden, ausgekeimt und bildeten Appressorien. Die Proben 4 dpi und 8 dpi zeigten im ersten Durchlauf (Juli 2011) keine Pilzstrukturen. Im zweiten Durchlauf (September 2011) konnten Hyphennetze mit einem Durchmesser von etwa 100 µm detektiert werden.

Auf dem Zuchtstamm V3125 zeigte *Guignardia bidwellii* einen ähnlichen Infektionsverlauf. Rund 80 – 90 % der Sporen bildeten Appressorien (1 dpi). Acht Tage nach der Infektion war eine Vielzahl an Hyphennetzen auf den Blattstücken zu finden, die zwischen 50 und 150 µm groß waren. Auch in der Wiederholung zeigte sich derselbe Infektionsverlauf.

Auf der Arthybride 'Börner' zeigte der Erreger ein anderes Verhalten. Es keimten nur 1 % der Sporen aus und auch nach acht Tagen war kein weiteres Fortschreiten der Infektion zu beobachten. In der Versuchswiederholung wurde diese Beobachtung bestätigt.

Unterschiedliche Infektionsverläufe wurden bei den Versuchen mit der Sorte 'Regent' beobachtet. Im ersten Versuch keimten rund 30 % der Sporen aus und bildeten nach einem Tag Appressorien. Diese waren jedoch auf dem Blattmaterial nach 4 dpi und 8 dpi deformiert und die Infektion setzte sich nicht fort. In der Versuchswiederholung hingegen bildeten 95 % der vorhandenen Sporen Appressorien (1 dpi) und die Probe 8 dpi zeigte mehrere Hyphennetze. *Guignardia bidwellii* zeigte auf 'Trollinger' bei beiden Wiederholungen den gleichen Infektionsverlauf. Rund 30 % der Sporen bildeten nach einem Tag Appressorien und es wurde bereits nach 4 Tagen ein Wachstum der Hyphen beobachtet. Die resultierenden Hyphennetze waren durchschnittlich 100 µm groß (8 dpi).

Auf 'Felicia' bildeten rund 70 % der Sporen Appressorien (1 dpi), die jedoch nicht in die Blätter eindringen (4 und 8 dpi). Eine Wiederholung konnte aufgrund des späten Zeitpunkts in der Vegetationsperiode (September) und des dadurch gehemmten Pflanzenwachstums nicht durchgeführt werden.

Die Keimrate von *Guignardia bidwellii* auf 'Villaris' betrug 20 % (1 dpi), aber die Infektion wurde blockiert (8 dpi). Die Versuchswiederholung bestätigte diesen

Verlauf. Die Keimrate war mit 70 % höher (1 dpi), doch das Pathogen drang wieder nicht in das Blatt ein (8 dpi).

Auf 'Merzling' waren bei einer Keimungsrate von rund 20 % nach einem Tag mehr Keimschläuche als Appressorien zu beobachten. Auch nach 8 Tagen waren noch eine Vielzahl der Appressorien und nur ein kleines Hyphennetz mit einem Durchmesser von 50 µm zu finden. In der Wiederholung lag die Keimrate mit etwa 50 % höher (1 dpi) und es wurden mehrere Hyphennetze beobachtet (8 dpi).

Die Infektion auf 'Riesling' erfolgte mit einer Keimrate von 90 % (1 dpi) und bereits nach 4 Tagen bildeten sich kleine Hyphennetze (50 µm), deren Anzahl im weiteren Infektionsverlauf zunahm (8 dpi). In der Wiederholung war die Keimung mit etwa 30 % geringer (1 dpi), doch die Anzahl der Appressorien nahm zu (4 dpi) und es traten Hyphennetze auf (8 dpi).

Von den Sporen auf *V. cinerea* bildeten in beiden Durchgängen nur wenige Appressorien aus (1 dpi), die sich nicht weiter entwickelten (4 dpi). Auffällig war, dass auf den Proben von 8 dpi kaum noch Sporen oder Appressorien beobachtet wurden. Zusätzlich war in den mikroskopischen Aufnahmen eine dichte Behaarung der Blattoberseite sichtbar.

Die Keimungsrate auf *V. riparia* betrug nach einem Tag 5 % und es bildeten sich keine Appressorien (4 – 8 dpi). In der Wiederholung war ebenfalls eine geringe Keimungsrate von weniger als 10 % zu beobachten (1 dpi). Nach 4 Tagen war jedoch eine größere Anzahl von Appressorien zu finden, die im weiteren Entwicklungsverlauf noch zunahm. Desweiteren bildete sich ein kleines Hyphennetz von rund 50 µm (8 dpi).

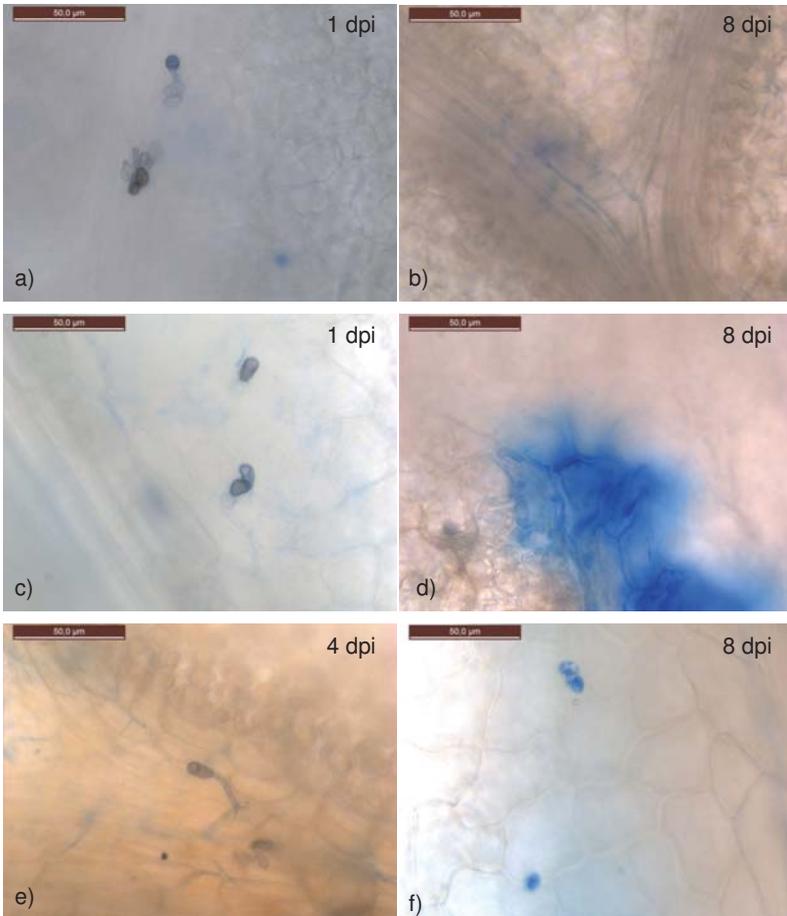
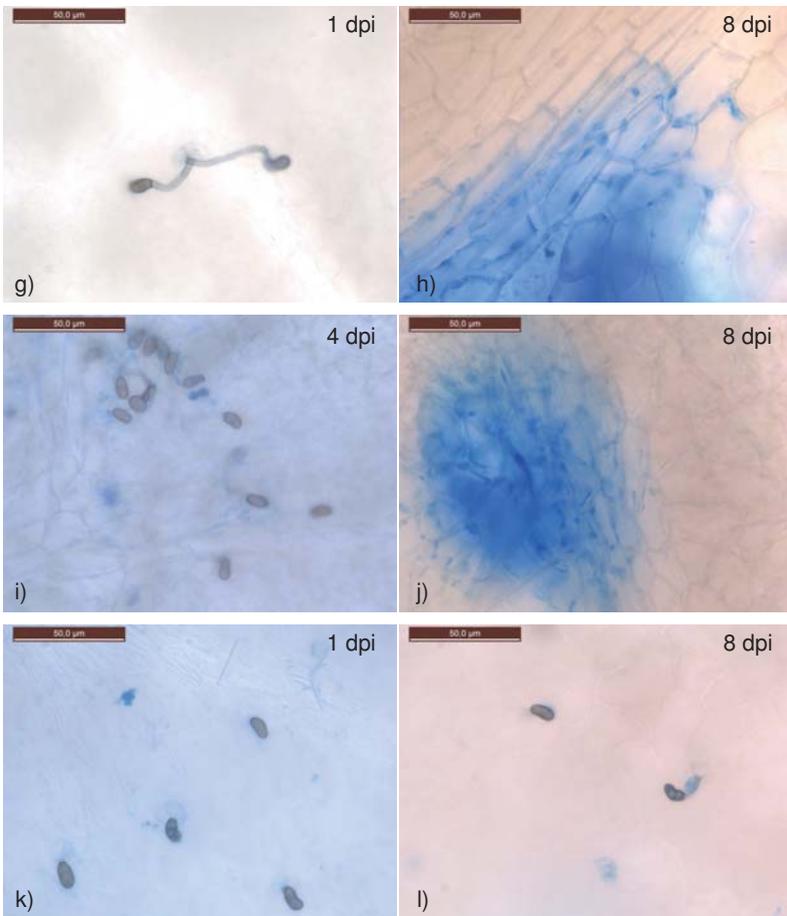
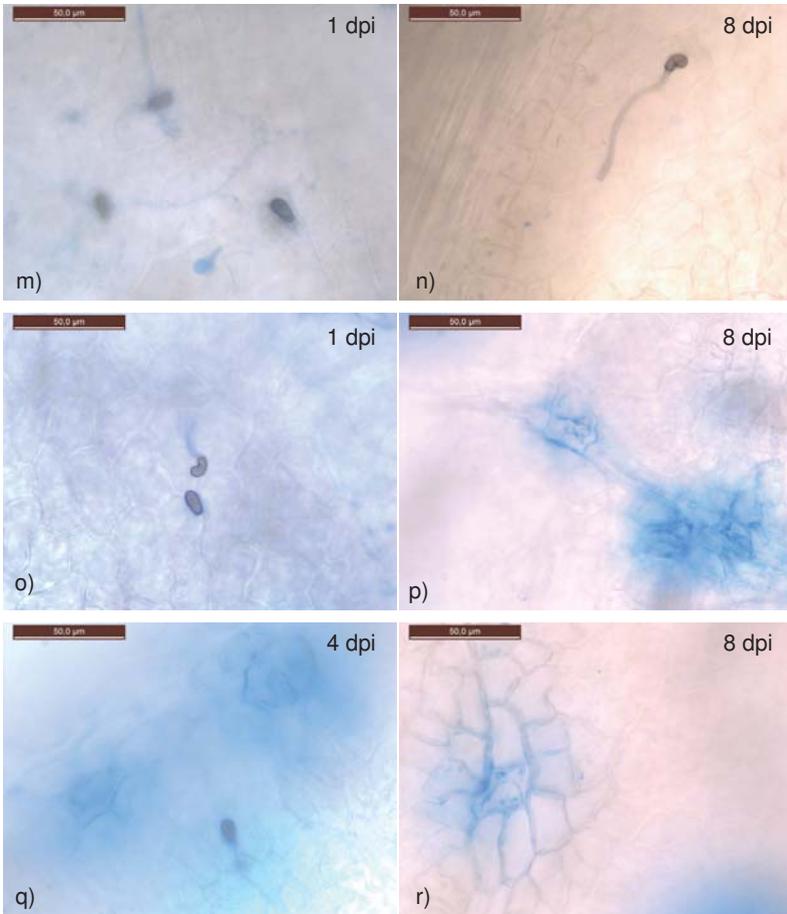


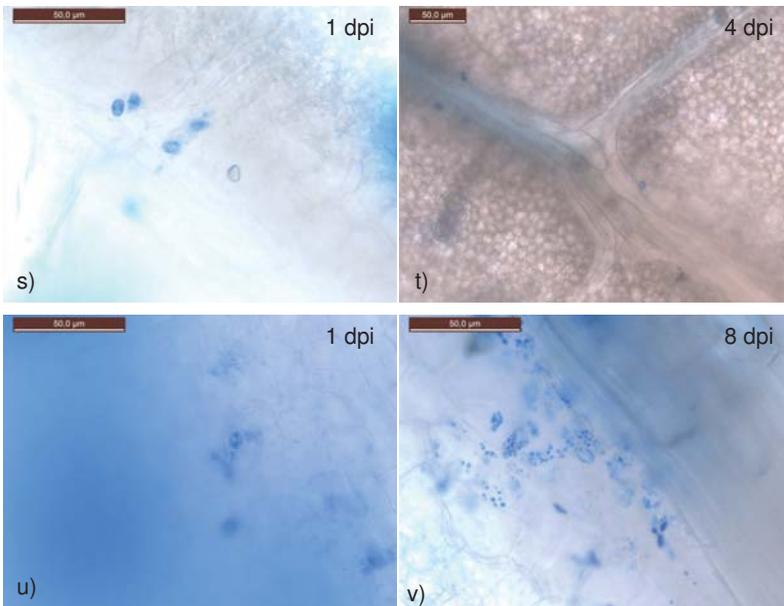
Abbildung 10: Die Etablierung von *Guignardia bidwellii* auf 'Müller-Thurgau' zeigte viele Appressorien und große Hyphennetze (a + b). Die Infektion des Zuchtstamms V3125 verlief ähnlich (c + d), wohingegen die Keimrate auf 'Börner' nur 1 % betrug und sich der Pilz nicht entwickelte (e + f).



Fortsetzung der Abbildung 10: Unterschiedliche Infektionsverläufe wurden auf der Sorte 'Regent' beobachtet. Abgebildet sind Aufnahmen aus der Versuchswiederholung, in der sich viele Appressorien und im Laufe der Infektion große Hyphennetze ausbildeten (g + h). Ähnlich hoch waren die Keimraten mit 70 % auf den Blättern von 'Trollinger' und 'Felicia' (i + k), jedoch bildeten sich bei Ersterem große Hyphennetze (j) und bei Letzterem war kein Eindringen des Pilzes in das Blatt zu erkennen (l).



Fortsetzung der Abbildung 10: Die Sorte 'Villaris' ermöglichte eine hohe Keimrate von *Guignardia bidwellii*, doch keine weitere Entwicklung des Pilzes (m + n). Auf 'Merzling' zeigte sich eine mittlere Keimrate und im weiteren Verlauf der Infektion bildeten sich Hyphennetze (o + p). Auf 'Riesling' wurden eine hohe Keimrate und Hyphenwachstum bereits nach 4 Tagen beobachtet (q + r).



Fortsetzung der Abbildung 10: Auf *V. cinerea* bildeten sich keine Appressorien und es fand keine Entwicklung von Hyphen statt (s + t). Bei Blättern von *V. riparia* wurden unterschiedliche Entwicklungen beobachtet. Bei der ersten Infektion war die Keimrate gering und es bildeten sich auch nach 8 Tagen keine Hyphen (u + v). Nach dem wiederholten Infizieren der Pflanzen wurden bei 8 dpi Hyphennetze beobachtet.

3.5.3 Quantitative Resistenzevaluierung an Blattscheiben

Ein schnelleres und einfacheres Testverfahren als den Test an Topfreben zur Resistenzevaluierung von einer Anzahl von mehr als 600 Reben ist erstrebenswert. Dazu wurde ein quantitativer Test auf inokulierten Blattscheiben mit mikroskopischer Auswertung nach Färbung mit Anilinblau durchgeführt (vgl. 2.2.4). Es wurden von 14 Genotypen je vier Blattscheiben aus jungen Blättern ausgestochen. Diese wurden mit einem Tropfen Sporensuspension beimpft und das Keimungsverhalten von 100 Sporen nach sechs Stunden unter dem Mikroskop ausgezählt. Die Versuchsreihe wurde wiederholt, wobei die Inkubationszeit auf 21 Stunden erhöht wurde. Die Versuche einer quantitativen Bestimmung der Resistenz von Rebsorten an Blattscheiben führten zu keinem eindeutigen Ergebnis. Eine Zusammenfassung der Daten zeigt Tabelle 11.

Einerseits waren signifikante Unterschiede zwischen den verschiedenen Blattscheiben zu beobachten (wie z.B. bei V3125). Andererseits schienen aus der Anzahl an gekeimten Sporen keine Rückschlüsse auf das Resistenzverhalten der Sorten möglich. Beispielsweise wurde bei der anfälligen Sorte 'Müller-Thurgau' erwartet, dass die Keimrate hoch sei. Der Mittelwert erreichte allerdings lediglich rund 57 %, wohingegen auf den Blattscheiben von 'Börner' viele Sporen auskeimten, obwohl diese Sorte in den Versuchen an Topfreben nie Befall zeigte. Keine der verwendeten Sorten zeigte Keimraten, die Rückschlüsse auf die jeweilige Resistenzprägung zulassen und die Resistenzeigenschaften eines Genotyps sind mit dieser Methode nicht feststellbar.

Tabelle 11: Quantitative Auswertung der Infektionsversuche an Blattscheiben. Für jede Sorte sind die Ergebnisse von vier Blattscheiben und ihr Mittelwert angegeben. Aufgelistet sind die Anzahl der Konidien, die nicht ausgekeimt sind (Spore), sowie die Anzahl der gekeimten Sporen. Von den gekeimten Sporen wurden die Anzahl derjenigen, die Appressorien gebildet hatten, getrennt betrachtet (Appr.). Die Versuche wurden zu den Zeitpunkten 6 hpi und 21 hpi, also insgesamt mit acht Blattscheiben durchgeführt. Blattmaterial, das aufgrund von Verbräunungen nicht mehr zu verwenden war, ist durch „/“ gekennzeichnet. Von den Werten der vier ausgezählten Blattscheiben wurde auch der Mittelwert angegeben (MW).

Genotyp	6 hpi				21 hpi		
	Nr.	Spore	gekeimt	Appr.	Spore	gekeimt	Appr.
'Müller-Thurgau'	1	79,00	21,00	8,00	58,00	42,00	32,00
	2	79,00	21,00	14,00	47,00	53,00	44,00
	3	87,00	11,00	2,00	43,00	57,00	50,00
	4	89,00	11,00	1,00	25,00	75,00	71,00
	MW	83,50	16,00	6,25	43,25	56,75	49,25
'Börner'	1	/	/	/	27,00	73,00	65,00
	2	/	/	/	27,00	73,00	63,00
	3	/	/	/	25,00	75,00	63,00
	4	/	/	/	24,00	76,00	68,00
	MW	/	/	/	25,75	74,25	64,75
V3125	1	76,00	24,00	7,00	70,00	30,00	17,00
	2	80,00	20,00	3,00	43,00	57,00	50,00
	3	53,00	47,00	13,00	50,00	50,00	44,00
	4	81,00	19,00	3,00	33,00	67,00	61,00
MW	72,50	27,50	6,50	49,00	51,00	43,00	
'Regent'	1	57,00	43,00	25,00	/	/	/
	2	20,00	80,00	2,00	/	/	/

		6 hpi			21 hpi		
	3	22,00	78,00	10,00	/	/	/
	4	87,00	13,00	3,00	/	/	/
	MW	46,50	53,50	10,00	/	/	/
'Trollinger'	1	43,00	57,00	45,00	15,00	85,00	80,00
	2	47,00	53,00	38,00	11,00	89,00	86,00
	3	/	/	/	23,00	77,00	72,00
	4	66,00	34,00	12,00	8,00	92,00	90,00
	MW	52,00	48,00	31,67	14,25	85,75	82,00
'Felicia'	1	62,00	38,00	5,00	/	/	/
	2	60,00	40,00	2,00	64,00	36,00	15,00
	3	74,00	26,00	3,00	69,00	31,00	20,00
	4	57,00	43,00	10,00	/	/	/
	MW	59,67	40,33	5,67	66,50	33,50	17,50
'Villaris'	1	83,00	17,00	9,00	34,00	66,00	57,00
	2	89,00	11,00	6,00	/	/	/
	3	85,00	14,00	11,00	/	/	/
	4	90,00	10,00	3,00	/	/	/
	MW	86,75	13,00	7,25	34,00	66,00	57,00
<i>V. cinerea</i>	1	23,00	77,00	19,00	/	/	/
	2	51,00	49,00	24,00	/	/	/
	3	52,00	48,00	9,00	/	/	/
	4	56,00	44,00	13,00	/	/	/
	MW	45,50	54,50	16,25	/	/	/
<i>V. riparia</i>	1	77,00	23,00	18,00	26,00	74,00	67,00
	2	80,00	20,00	17,00	42,00	58,00	40,00
	3	70,00	30,00	24,00	27,00	73,00	69,00
	4	89,00	11,00	5,00	38,00	62,00	55,00
	MW	79,00	21,00	16,00	33,25	66,75	57,75
'Merzling'	1	88,00	12,00	12,00	29,00	71,00	61,00
	2	75,00	25,00	16,00	31,00	69,00	62,00
	3	72,00	28,00	22,00	14,00	86,00	81,00
	4	87,00	13,00	9,00	21,00	79,00	75,00
	MW	80,50	19,50	14,75	23,75	76,25	69,75
'Riesling'	1	60,00	40,00	27,00	54,00	46,00	29,00
	2	70,00	30,00	17,00	/	/	/
	3	79,00	21,00	4,00	48,00	46,00	35,00
	4	76,00	24,00	8,00	47,00	53,00	35,00
	MW	71,25	28,75	14,00	49,67	48,33	33,00
'Villard Blanc'	1	92,00	8,00	0,00	43,00	57,00	42,00
	2	76,00	24,00	12,00	36,00	64,00	59,00
	3	88,00	12,00	8,00	51,00	49,00	34,00
	4	80,00	20,00	17,00	63,00	37,00	35,00
	MW	84,00	16,00	9,25	48,25	51,75	42,50

	6 hpi			21 hpi			
Gf.Ga-47-42	1	/	/	/	58,00	42,00	26,00
	2	/	/	/	31,00	61,00	58,00
	3	/	/	/	56,00	44,00	34,00
	4	/	/	/	51,00	49,00	31,00
	MW	/	/	/	49,00	49,00	37,25
'Seyval Blanc'	1	60,00	40,00	28,00	63,00	37,00	27,00
	2	76,00	24,00	19,00	43,00	57,00	47,00
	3	78,00	22,00	11,00	38,00	62,00	47,00
	4	59,00	41,00	27,00	57,00	43,00	25,00
	MW	68,25	31,75	21,25	50,25	49,75	36,50

3.6 QTL-Analysen

Die Verrechnungen der Ergebnisse aus der Phänotypisierung der Schwarzfäuleresistenz mit der genetischen Consensus-Karte von V3125 x 'Börner' führte zu einer Vielzahl an QTL. Sämtliche QTL-Daten aller Bonitursysteme sind in Tabelle 17 im Anhang aufgelistet. In Tabelle 12 findet sich eine Übersicht über die Infektionsversuche und die signifikanten QTL, die sowohl durch das Intervall Mapping als auch die Kruskal-Wallis Analyse detektiert wurden. Aufgelistet sind die Resistenztests und die Chromosomen, auf denen QTL detektiert wurden.

Tabelle 12: Übersicht über die Ergebnisse der QTL-Berechnungen. Dargestellt sind die Chromosomen, auf denen bei der Verrechnung der verschiedenen Datensätze zur Phänotypisierung QTL detektiert wurden. Wenn eine Detektion nicht durch Intervallkartierung möglich war, sondern durch die Kruskal-Wallis Analyse, ist ein „KW“ angegeben. Sonst wurden alle QTL sowohl durch das IM als auch durch die Kruskal-Wallis Analyse detektiert.

Datensatz	Chromosom					
2010-GF-01	16			10		17
2009-KR-02		1		4		
2010-KR-03	14	KW		4	12	13
2010-KR-04	14	16				15
2010-KR-05	14	16				13
2011-KR-06	14	KW		3		15
2011-KR-07	14				13	15

Datensatz	Chromosom		
2011-KR-08	14	16	17
Gesamt	14	16	13

Einzelheiten zu den identifizierten QTL sind in Tabelle 13 aufgelistet. An dieser Stelle und in dieser Tabelle werden zugunsten der Übersichtlichkeit nur die QTL, welche unter der Verwendung der Prüfmerkmale „Anzahl der befallenen Blätter“ und dem Bonitursystem mit 5 Klassen aufgeführt. Die Anzahl der befallenen Blätter stellt einen metrischen Wert dar, weshalb diese Bonituren objektiver sind als die geschätzten Werte eines nichtmetrischen Merkmals in einer Ordinalskala. Das 5-Klassensystem schließt alle übrigen Prüfmerkmale mit ein und bildet daher QTL ab, die auf der Gesamtheit der übrigen Prüfmerkmale basieren. Grundsätzlich führten alle verwendeten Bonitursysteme zu ähnlichen QTL-Ergebnissen, doch die Kombination aus dem 5-Klassensystem mit dem objektiven Zählen der befallenen Blätter lieferte die aussagekräftigsten Ergebnisse. Bei Ergebnissen, in die Freilandbonituren eingeflossen sind, werden nur die QTL basierend auf dem 5-Klassensystem dargestellt. Als ein Boniturschema, welches auf metrischen Merkmalen basiert, wird zum Vergleich das Vorhandensein von Pyknidien angegeben. Da zu Beginn der Arbeiten 2009 noch nicht alle Bonitursysteme entwickelt waren, basieren diese QTL, wie auch die mit dem Datensatz Mo05 identifizierten, nur auf den Datensätzen der Befallsstärken.

Haupt-QTL auf Chromosom 14

Nahezu alle Berechnungen führen zu einem Haupt-QTL auf dem Chromosom 14. Eine Ausnahme waren nur die Infektionsversuche 2010-GF-01 und 2009-KR-02. Diese Versuche werden jedoch nur eingeschränkt berücksichtigt, da der Populationsumfang nicht vollständig war und zu diesem Zeitpunkt die Bonitur noch nicht standardisiert erfolgte. So wurde 2009 nur die Befallsstärke bonitiert und im Freiland wurden lediglich die Klassensysteme verwendet.

Der Haupt-QTL erreicht LOD-Werte zwischen 3,0 und 7,4 und erklärt 8,2 – 19,0 % der Varianz der Merkmalsausprägung. Der Marker GF14-04 korreliert

nach Kruskal-Wallis signifikant mit dem QTL. Für jeden QTL wird im Folgenden das Konfidenzintervall (LOD-1) für den größten Bereich (Maximalbereich) und den kleinsten Bereich (Minimalbereich) angegeben, da die Werte durch die verschiedenen Boniturschemata schwanken. Das Konfidenzintervall (LOD-1) des Haupt-QTL liegt in einem Maximalbereich von 53,5 – 85,6 cM und in einem Minimalbereich von 67,0 – 78,0 cM (2011-KR-07). Ausnahmen stellen die QTL-Ergebnisse mit den Datensätzen 2011-KR-08 und Mo05+Gf10 dar (vgl. Tabelle 13). Beim Ersteren wird mit dem Bonitursystem 5-Klassen der Marker GF14-06 als korrelierender Marker erhalten und das Konfidenzintervall liegt in einem Bereich von 73,3 – 93,7 cM. Beim Letztgenannten ist der Marker VMC2a5 korrelierend. Das Konfidenzintervall liegt in einem Bereich von 50,5 – 63,5 cM. Die Mehrzahl der Berechnungen weist eine Korrelation mit dem Marker GF14-04 auf und die QTL liegen im Bereich von rund 60,0 – 80,0 cM.

QTL auf Chromosom 16

Ein QTL auf Chromosom 16 wurde bei der Verrechnung der Daten aus den vier Versuchen 2010-GF-01, 2010-KR-04, 2010-KR-05 und 2011-KR-08 detektiert. Somit tritt der QTL bei vier von sechs vollständigen Versuchsreihen im Klimaraum auf. Bei den übrigen Versuchen (2010-KR-03 und 2011-KR-06) wurde eine Korrelation eines Markers der Kopplungsgruppe 16 nach KW festgestellt oder der QTL trat im Zusammenhang mit bestimmten Bonitursystemen auf. Die maximalen LOD-Werte des QTL liegen zwischen 2,7 und 4,7 und die Erklärung der Varianz der Merkmalsausprägung zwischen 7,4 und 11,5 %. Durch die Kruskal-Wallis-Analyse wurde der Marker VCHR16c_158 als signifikant korrelierender Marker für diesen Locus ermittelt. Zusätzlich wurde häufig eine signifikante Korrelation mit dem Marker VCHR16b_181 nachgewiesen. Das Konfidenzintervall liegt im Maximalbereich zwischen 25,1 und 43,2 cM, im Minimalbereich zwischen 33,1 und 43,2 cM.

Eine Ausnahme stellen die Ergebnisse des Versuchs 2010-KR-03 dar. Hier wurde die Signifikanzgrenze nicht überschritten, jedoch eine Korrelation mit dem Marker VCHR16a_107 festgestellt. Der QTL wurde auch unter Verwendung der Boniturdaten aus dem Freiland erhalten. Auch hier korreliert

der Marker VCHR16c_158 mit dem QTL und das Konfidenzintervall entspricht mit 33,2 – 43,2 cM den Ergebnissen der Versuche im Klimaraum.

QTL auf Chromosom 4

Der QTL auf Chromosom 4 trat nur bei den Versuchen 2009-KR-02 und 2010-KR-03 auf. Beide Versuche wurden mit dem Isolat Mo05 durchgeführt. Die maximalen LOD-Werte der QTL aus der Verwendung verschiedener Boniturschemata betragen 3,2, 4,2 bzw. 4,6 und erklären 11,0, 11,3 bzw. 12,5 % der phänotypischen Varianz der Merkmalsausprägung. Der Marker VMcNg2c2.1 korreliert für die Daten aus dem Jahr 2009 und der Marker GF04-03 in 2010 mit der Schwarzfäuleresistenz. Das Konfidenzintervall liegt in einem Maximalbereich von 70,8 – 89,8 cM und in einem Minimalbereich von 78,5 – 89,8 cM. Bei der Verwendung des Datensatzes, der nur auf Versuchen mit dem Isolat Mo05 basiert, wurde auf Chromosom 4 die Signifikanzgrenze nicht überschritten. Auffällig ist an dieser Stelle, dass im gemeinsamen Datensatz Mo05 ein QTL auf Chromosom 16 detektiert wird, der in den einzelnen Berechnungen nicht signifikant war. Der QTL auf Chromosom 4 ist nicht konstant reproduzierbar. Da er zu Beginn der Arbeiten mehrfach aufgetreten war, wurden für dieses Chromosom neue Marker entwickelt. Nach dem Ausbleiben der Reproduzierbarkeit in den folgenden QTL-Analysen unter Verwendung des erweiterten Datensatzes und des zweiten Isolats, wurde er nicht weiter für eine Feinkartierung verwendet.

QTL auf den Chromosomen 13, 15 und 17

Neben den Haupt-QTL auf den Chromosomen 14 und 16 wurden auf den Chromosomen 13, 15 und 17 mehrfach detektierbare Neben-QTL gefunden. Da diese jedoch nicht reproduzierbar über alle Datensätze auftraten, werden sie an dieser Stelle nicht weiter behandelt.

Ergebnisse

Tabelle 13: Die bezüglich der Anzahl der Bonitursysteme reduzierten Ergebnisse der QTL-Analysen. Angegeben sind die jeweiligen Infektionsversuche, das Bonitursystem (Anzahl der befallenen Blätter, Vorhandensein von Pyknidien, die Befallsstärke und das 5-Klassensystem), sowie die Chromosomen, auf denen QTL detektiert wurden. Für jeden QTL wurde der maximale LOD-Wert, die chromosomen-spezifische Signifikanzgrenze (SG), der korrelierende Marker nach KW mit $P=0,01$ und das Konfidenzintervall (LOD-1) in cM der Position der entsprechenden LG angegeben. Fehlende Werte bedeuten, dass die Signifikanzgrenze auf dem Chromosom nicht überschritten wurde, andere Werte wie eine signifikante Korrelation nach KW jedoch vorliegen.

Datensatz	Bonitur-system	LG	LOD-Wert	SG	% Expl.	korrelierende Marker	KW	Konfidenzintervall (cM)	
2010-GF-01	5-Klassen	10	4,50	2,9	11,2	VMC3e11.2	KW	34,7-37,32	
		16	3,22	2,5	8,2	VCHR16c_158	KW	33,07-43,16	
	Pyknidien	10	5,85	2,9	12,0	VMC3e11.2	KW	34,75-37,32	
		14	-	-	-	VMC 8h10_154	KW	-	
		17	5,20	2,9	12,0	UDV_92	KW	70,79-19,74	
2009-KR-02	Befallsstärke	1	3,04	2,9	10,4	GF01-04	KW	38,81-45,58	
		4	3,24	2,8	11,0	VMCNG2c2.1	KW	78,51-89,75	
2010-KR-03	Anzahl	2	3,09	3,0	8,6	-	-	47,47-68,67	
		4	4,15	3,0	11,3	GF04-03	KW	70,76-89,75	
		12	-	-	-	GF12-08	KW	-	
		13	-	-	-	VMC2c7_144	KW	-	
		14	2,80	2,9	7,9	GF14-04	KW	66,95-74,25	
		19	-	-	-	GF19-07	KW	-	
	5-Klassen	4	4,56	2,9	12,5	GF04-03	KW	73,51-89,76	
		12	3,56	2,8	9,9	GF12-08	KW	0-9,14	
		13	2,80	2,9	-	VMC2c7_144	KW	-	
		14	2,50	2,9	8,1	GF14-04	KW	64,31-75,05	
		16	-	-	-	VCHR16a_107	KW	-	
2010-KR-04	Anzahl	19	3,38	2,9	9,4	GF19-07	KW	2,49-16,65	
		6	2,40	2,7	-	GF06-02_341	KW	-	
		7	-	-	-	GF07-14_174	KW	-	
		11	2,80	2,8	6,5	-	-	48,62-62,67	
		14	2,99	2,8	6,6	GF14-04	KW	54,46-79,05	
		16	3,99	2,6	10,9	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	21,36-43,16	
	5-Klassen	14	2,50	3,0	-	GF14-04	KW	-	
		15	3,20	2,6	8,7	GF15-04	KW	0-20,75	
		16	3,56	2,5	10,1	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	21,36-43,16	
	2010-KR-05	Anzahl	6	2,50	2,8	-	GF06-08	KW	-
			14	3,19	2,9	8,8	GF14-04	KW	56,55-76,05

Ergebnisse

Datensatz	Bonitur-system	LG	LOD-Wert	SG	% Expl.	korrelierende Marker	KW	Konfidenzintervall (cM)
2011-KR-06		16	4,34	2,4	12,3	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	21,36-43,16
	5-Klassen	2	-	-	-	GF02-14_268	KW	-
		8	3,35	2,8	9,2	GF08-09	KW	34,89-46,01
		13	2,30	3,0	-	GF13-13	KW	-
		14	2,95	2,9	8,2	GF14-04	KW	32,57-54,46
		16	4,11	2,5	11,2	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	20,36-43,16
	Anzahl	3	4,12	2,8	9,9	UDV-022	KW	24,02-36,55
		13	2,44	2,8	6,0	GF13-13	KW	34,38-51,17
		14	4,39	3,0	10,5	VMC2b11	KW	32,57-54,46
	5-Klassen	3	3,40	2,8	8,9	VMC1a5	KW	11,35-36,55
	14	4,01	2,9	10,4	VMC2b11	KW	33,57-54,46	
	15	2,89	2,5	7,6	GF15-10_206	KW	0-18,17	
2011-KR-07	Anzahl	13	3,10	3,1	-	VMC2c7_151	KW	-
		14	4,89	3,1	3,1	GF14-04	KW	66,95-78,05
		15	2,60	2,7	-	GF15-10_206	KW	-
	5-Klassen	5	2,20	3,0	-	VMC16d4	KW	-
		8	2,80	3,1	-	VMC5h2_196	KW	-
		13	3,05	3,0	8,0	GF13-01	KW	7,46-21,22
		14	5,76	3,0	14,8	GF14-04	KW	79,05-66,95
	15	-	-	-	GF15-10_206	KW	-	
2011-KR-08	Anzahl	14	7,40	3,0	19,0	GF14-04	KW	71,25-81,56
		16	2,83	2,6	7,7	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	22,36-43,16
		17	4,08	2,7	11,0	VVIN73_256	KW	21,77-34,30
	5-Klassen	14	7,62	3,0	19,5	GF14-06	KW	73,25-93,68
		16	2,70	2,4	7,4	VCHR16c_158	KW	24,63-43,16
		17	3,83	2,9	10,3	VVIN73_256	KW	23,77-35,30
Gesamt	Pyknidien	8	2,73	3,0	6,6	VMCNg2e2_140	KW	37,89-79,1
		12	-	-	-	GF12-03	KW	-
		13	4,08	3,0	9,7	GF13-01	KW	35,38-41,41
		14	4,65	3,1	10,9	GF14-04	KW	64,31-73,25
		16	4,72	2,4	11,5	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	22,36-43,16
	5-Klassen	12	3,00	2,8	-	VMC5c6	KW	-
		13	3,20	3,0	-	GF13-01	KW	-
		14	6,26	3,0	14,4	GF14-04	KW	64,31-78,05
	16	4,66	2,4	10,9	VCHR16c_158	KW	26,06-43,16	
Mo05	Befallsstärke	4	2,66	2,9	6,9	GF04-03	KW	69,76-89,76

Ergebnisse

Datensatz	Bonitur-system	LG	LOD-Wert	SG	% Expl.	korrelierende Marker	KW	Konfidenzintervall (cM)
Mo05+Gf10		12	2,70	3,0	-	VMC5c6	KW	-
		14	2,20	3,0	-	GF14-04	KW	-
		15	2,74	2,6	7,1	GF15-02	KW	7,74-21,90
		16	3,13	2,5	8,1	VCHR16c_158	KW	20,24-41,16
	Anzahl	3	3,19	2,9	8,1	VMC1a5	KW	23,02-30,73
		14	5,06	2,9	12,5	VMC6c10	KW	32,57-47,01
		16	3,49	2,5	8,8	VCHR16c_158	KW	25,06-43,16
	5-Klassen	3	2,40	2,8	-	VMC1a5	KW	-
		14	4,87	3,0	12,3	VMC2a5	KW	50,51-63,5
		16	3,68	2,5	9,4	VCHR16b_181 VCHR16c_158	KW	0-18,10
Gf10	Anzahl	13	3,18	3,0	7,7	GF13-01	KW	0-21,37
		14	4,89	2,9	11,5	GF14-04	KW	67,95-78,05
		15	2,60	2,6	-	GF15-10_206	KW	-
	5-Klassen	5	2,80	3,0	-	GF05-04	KW	-
		13	3,19	3,1	8,2	GF13-01	KW	10,22-26,79
Gesamt KR		14	6,51	2,9	16,3	GF14-06	KW	70,25-85,62
	Anzahl	8	-	-	-	VMCNG2b6	KW	-
		12	-	-	-	VMC5c6	KW	-
		13	3,13	3,0	7,5	GF13-01	KW	10,22-21,22
		14	6,75	3,0	15,5	GF14-04	KW	65,95-77,01
		16	3,29	2,5	7,9	VCHR16b_181V CHR16c_158	KW	0-13,10
	5-Klassen	12	3,00	2,9	7,1	VMC5c6	KW	-
		13	3,80	3,1	12,3	GF13-01	KW	7,46-25,79
		14	7,10	2,8	18,5	GF14-04	KW	65,95-79,05
		16	3,10	2,5	7,3	VCHR16b_181V CHR16c_158	KW	23,40-43,16

Im Folgenden sind die Haupt-QTL auf den Chromosomen 14 und 16 graphisch dargestellt (vgl. Abbildung 11 und Abbildung 12). Ausgewählt wurden die beiden reproduzierbaren QTL, die in den sechs Versuchen im Klimaraum und dem 5-Klassensystem mehrfach identifiziert werden konnten.

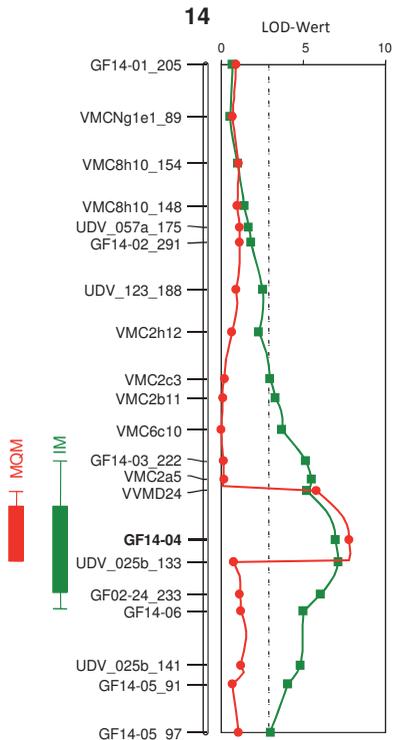


Abbildung 11: Das Chromosom 14 mit den entsprechenden Markern und dem Ergebnis der QTL-Analyse. Abgebildet sind die Konfidenzintervalle (Balken = LOD-1, Whisker = LOD-2) und das Diagramm mit den LOD-Werten des Intervall Mapping (IM, grün) und des MQM (rot). Der korrelierende Marker ist GF14-04 nach Kruskal-Wallis (fett), welcher als Cofaktor gewählt wurde. Die gestrichelte Linie gibt die kopplungsgruppen-spezifische Signifikanzgrenze an.

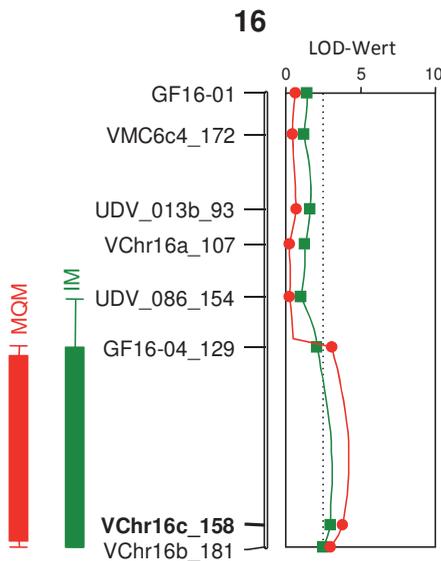


Abbildung 12: Der QTL auf Chromosom 16. Abgebildet ist das Chromosom mit den kartierten Markern. Der korrelierende Marker ist der Marker VChr16c_158 nach Kruskal-Wallis (fett), welcher für das MQM als Cofaktor gesetzt wurde. Die chromosomen-spezifische Signifikanzgrenze beträgt 2,5 (gestrichelte Linie). Die graphischen Elemente wurden in Abbildung 14 erklärt.

3.7 Entwicklung neuer molekularer Marker im Bereich der Haupt-QTL und Wiederholung der QTL-Analysen

3.7.1 Entwickelte Marker und deren Ergebnisse

Eine hochauflösende genetische Karte in den QTL-Regionen ermöglicht es, die Konfidenzintervalle der QTL zu reduzieren und die Faktoren, die die Merkmalsausprägung beeinflussen einzugrenzen. Daher wurden für eine Feinkartierung der QTL-Regionen gezielt insgesamt 91 neue flankierende Primerpaare für Mikrosatelliten auf Basis des Referenzgenoms entwickelt (vgl. Tabelle 14). Für das Chromosom 14 wurden 29 Paare getestet. Von diesen

waren 6 voll informativ, 13 teilinformativ und 9 lieferten kein Produkt oder waren monomorph. Die Reihenfolge der bereits kartierten Marker blieb weitgehend unverändert, Markerdistanzen wurden reduziert und Randbereiche des Chromosoms erschlossen (vgl. Abbildung 13).

Für die Wiederholung der Kopplungs- bzw. Rekombinationsanalyse des Chromosoms 16 wurden 31 neue Primerpaare entwickelt. Von diesen waren 4 voll informativ, 5 teilinformativ und 22 lieferten kein Produkt oder waren monomorph. Dadurch wurden neue Bereiche des Chromosoms erfasst und der QTL-Bereich wurde durch weitere Marker ergänzt (vgl. Abbildung 12).

Für das Chromosom 4 wurden 31 Primerpaare entwickelt, von denen 10 voll informativ und 7 teilinformativ waren. 14 Paare lieferten kein Produkt oder waren nicht informativ. Die Markerdichte wurde erhöht und die terminalen Regionen des Chromosoms wurden erfasst.

Somit wurden 49 % aller entwickelten Primerpaare erfolgreich für die Feinkartierung eingesetzt. Die Primersequenzen sind im Anhang Tabelle 16 aufgelistet.

Tabelle 14: Von der Genomsequenz PN40024 abgeleitete Marker mit Angaben zur Kopplungsgruppe (LG), dem Namen des Primerpaares, dessen Repeatmotiv (SSR-Sequenz) in der Referenzsequenz PN40024 und dem ermittelten Vererbungsschema innerhalb der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' (VxB). Dargestellt ist die Kodierung für das Programm JoinMap 4.0 (vgl. Tabelle 6).

LG	Name	SSR-Sequenz	VxB
4	GF04-01	(TA)20	kein Produkt
4	GF04-02	(GA)21	kein Produkt
4	GF04-03	(GGCTT)7	<abxcd>
4	GF04-04	(ATA)10	kein Produkt
4	GF04-05	(GT)15	<abxcd>
4	GF04-06	(TGG)6	monomorph
4	GF04-07	(CA)9	<abxcd>
4	GF04-08	(CT)11	<abxcd>
4	GF04-09	(AT)27	monomorph
4	GF04-10	(AG)12	<efxeg>
4	GF04-11	(TC)12	<abxcd>
4	GF04-12	(ATTT)6	<efxeg>
4	GF04-13	(CT)9	kein Produkt
4	GF04-14	(TC)20	<lmxll>
4	GF04-15	(GAG)8	<efxeg>
4	GF04-16	(ATA)6	<abxcd>

LG	Name	SSR-Sequenz	VxB
4	GF04-17	(AC)12	<abxcd>
4	GF04-18	(CAC)6	<efxeg>
4	GF04-19	(TC)9	kein Produkt
4	GF04-20	(GA)6	monomorph
4	GF04-21	(GT)9	<abxcd>
4	GF04-22	(AAG)12	<nnxnp>
4	GF04-23	(AAATA)6	kein Produkt
4	GF04-24	(GA)6	kein Produkt
4	GF04-25	(AAG)6	kein Produkt
4	GF04-26	(TC)6	kein Produkt
4	GF04-27	(TCC)6	<nnxnp>
4	GF04-28	(TGAT)6	kein Produkt
4	GF04-29	(GA)10	<abxcd>
4	GF04-30	(TC)18	kein Produkt
4	GF04-31	(TGG)6	monomorph
4	GF04-41	(AG)11	<abxcd>
14	GF14-07	(TAAA)7	<abxcd>
14	GF14-08	(TG)12	<nnxnp>
14	GF14-09	(AAG)9	monomorph
14	GF14-10	(CTTCTC)6	kein Produkt
14	GF14-11	(CA)10	<abxcd>
14	GF14-12	(AG)19	<efxeg>
14	GF14-13	(AG)14	<lmxll>
14	GF14-14	(CTG)6	<efxeg>
14	GF14-15	(CCCT)7	kein Produkt
14	GF14-16	(ATGT)7	<abxcd>
14	GF14-17	(CA)8	monomorph
14	GF14-18	(TTTC)6	monomorph
14	GF14-19	(AG)8	<nnxnp>
14	GF14-20	(TCA)10	<lmxll>
14	GF14-32	(TCT)7	monomorph
14	GF14-33	(TG)7	<abxcd>
14	GF14-34	(AG)13	<lmxll>
14	GF14-35	(AG)14	Kein Produkt
14	GF14-36	(CT)9	<abxcd>
14	GF14-37	(GA)6	Kein Produkt
14	GF14-38	(ATT)7	Kein Produkt
14	GF14-39	(TTA)7	<abxcd>
14	GF14-40	(TTC)8	<lmxll>
14	GF14-41	(CA)8	<lmxll>
14	GF14-42	(AAT)7	<nnxnp>
14	GF14-43	(TC)6	Kein Produkt
14	GF14-44	(TC)9	<nnxnp>
14	GF14-45	(GGC)6	Kein Produkt
14	GF14-46	(AG)8	<efxeg>
14	GF14-47	(CT)8	Kein Produkt

LG	Name	SSR-Sequenz	VxB
14	GF14-48	(TC)12	<Imxll>
16	GF16-11	(AATAA)9	Kein Produkt
16	GF16-12	(ATAC)8	<nnxnp>
16	GF16-13	(ATT)10	Kein Produkt
16	GF16-14	(CATA)7	<efxeg>
16	GF16-15	(AAT)6	<abxcd>
16	GF16-16	(GCCCC)6	Kein Produkt
16	GF16-17	(TTA)6	Kein Produkt
16	GF16-18	(CTT)13	<nnxnp>
16	GF16-19	(AGA)6	Kein Produkt
16	GF16-20	(AAAG)6	Kein Produkt
16	GF16-21	(ATC)6	Kein Produkt
16	GF16-22	(TTC)8	<efxeg>
16	GF16-23	(GAG)9	<nnxnp>
16	GF16-24	(GAT)6	Kein Produkt
16	GF16-25	(TAT)8	<abxcd>
16	GF16-26	(GAA)7	<abxcd>
16	GF16-27	(AAAG)7	Kein Produkt
16	GF16-28	(TTC)7	<abxcd>
16	GF16-29	(TCT)9	Kein Produkt
16	GF16-30	(ATA)14	Kein Produkt
16	GF16-31	(TG)14	Kein Produkt
16	GF16-32	(TC)7	Kein Produkt
16	GF16-33	(TC)8	Kein Produkt
16	GF16-34	(AGC)7	Kein Produkt
16	GF16-35	(AG)6	Kein Produkt
16	GF16-36	(AG)6	Kein Produkt
16	GF16-37	(GA)7	Kein Produkt
16	GF16-38	(CT)8	Kein Produkt
16	GF16-39	(GA)6	Kein Produkt
16	GF16-40	(AG)13	Kein Produkt
16	GF16-41	(CTT)11	Kein Produkt
16	GF16-42	(CT)8	Kein Produkt

3.7.2 Analyse der QTL auf den Chromosomen 14 und 16 nach der Feinkartierung

Die QTL-Berechnungen wurden mit der erweiterten genetischen Karte für die Ergebnisse aus dem Datensatz, der alle Versuchsreihen im Klimaraum umfasst (Gesamt KR) und dem Bonitursystem in 5 Klassen wiederholt (vgl. Tabelle 13). Grundsätzlich wurden alle Ergebnisse der zuvor dargestellten Analysen bestätigt.

Die Feinkartierung auf dem Chromosom 14 führte zu einer Eingrenzung des QTL. Dabei wies der neu entwickelte Marker GF14-42 die deutlichste Korrelation mit der Merkmalsausprägung nach Kruskal-Wallis auf und löste damit den bislang am engsten gekoppelten Marker GF14-04 ab (vgl. Abbildung 13). Die Integration weiterer Marker führte zu einer besseren Auflösung der genetischen Karte, sodass sich der LOD-Wert im IM von 7,1 auf 9,8 erhöhte und die Erklärung der Varianz der Merkmalsausprägung von 18,5 % auf 21,8 % anstieg. Die Konfidenzintervalle verringerten sich beim IM um 6,8 cM und der Bereich wurde durch das MQM auf eine Größe von 1,6 cM reduziert (74,2 – 75,8 cM). Dies entspricht im Referenzgenom einem Bereich von etwa 287 kB.

Der Verlauf der Feinkartierung ist in Abbildung 13 dargestellt. Ausgangspunkt mit 21 Markern ist der QTL vor der Integration weiterer Marker oben in der Abbildung graphisch dargestellt, darunter der QTL nach der Integration von 5 zusätzlichen neuen Marker und unten der QTL nach der Integration aller neu entwickelten Marker mit insgesamt 35 Markern. Deutlich zu sehen ist die jeweilige Verringerung der Konfidenzintervalle.

Die Feinkartierung auf dem Chromosom 16 (vgl. Abbildung 14) führte nicht zu einer sichereren Positionierung des QTL. Der LOD-Wert blieb beim IM gleich (3,1) und stieg lediglich durch das MQM auf 4,2. Größere Markerabstände auf dem Chromosom resultierten in breiten Konfidenzintervallen, die keine eindeutige Aussage über die Lage des QTL zulassen. Der Marker VChr16c_158 blieb auch in der Feinkartierung der korrelierende Marker nach Kruskal-Wallis. Die Erklärung der Varianz der Merkmalsausprägung erhöhte sich von 7,3 % auf 8,5 %. Die Ergebnisse der QTL-Analysen nach der Feinkartierung sind in Tabelle 15 aufgelistet.

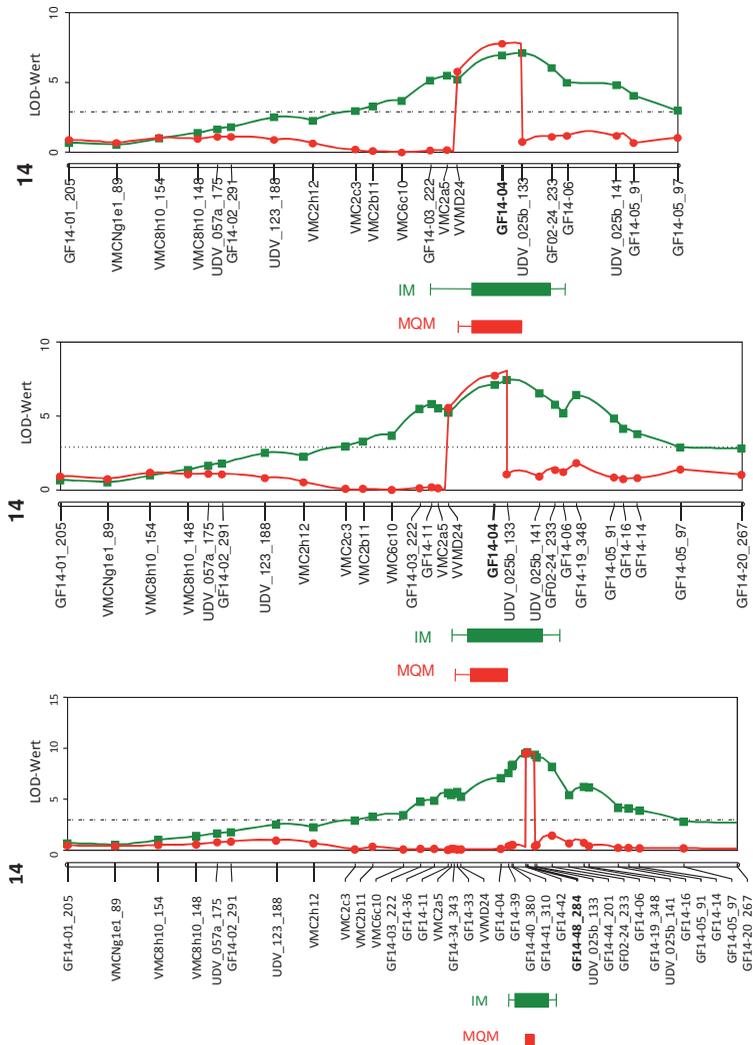


Abbildung 13: Der QTL auf dem Chromosom 14 im Verlauf der Feinkartierung (oben: 21 Marker = Ausgangspunkt; Mitte: 26 Marker = 1. Stufe der Feinkartierung; unten: 35 Marker = 2. Stufe der Feinkartierung). Abgebildet sind das Chromosom mit den entsprechenden Positionen der Marker, die Konfidenzintervalle (Balken = LOD-1; Whisker = LOD-2) und das Diagramm mit den LOD-Werten, die aus dem Intervall Mapping (IM, grün) und dem Multiple QTL Mapping (MQM, rot) resultieren. Der Marker, der im MQM als Cofaktor gesetzt wurde, ist fett markiert. Die gestrichelte Linie symbolisiert die Signifikanzgrenze.

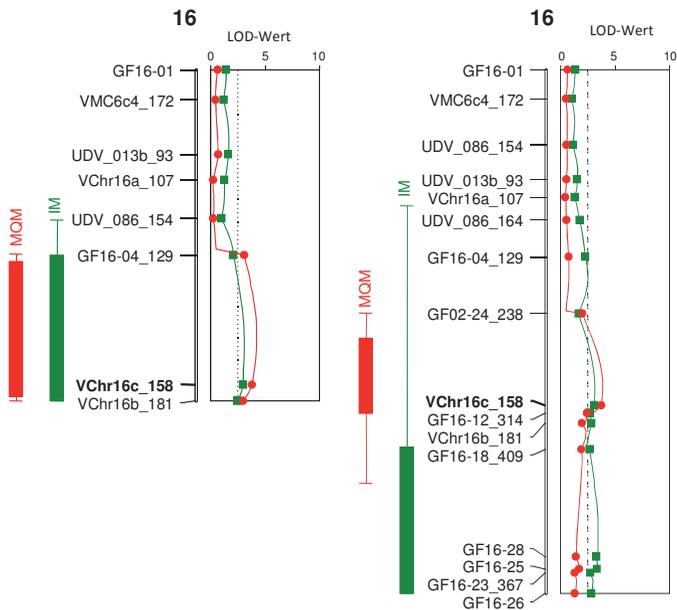


Abbildung 14: Der QTL auf dem Chromosom 16 vor (links) und nach (rechts) der Feinkartierung. Abgebildet ist jeweils das Chromosom mit den kartierten Markern, die Konfidenzintervalle (Balken) und das Diagramm mit den LOD-Werten aus dem Intervall Mapping (IM, grün) und dem Multiple QTL Mapping (MQM, rot). Der Marker, der im MQM als Cofaktor gesetzt wurde, ist fett markiert. Die Signifikanzgrenze ist durch eine gestrichelte Linie dargestellt und entspricht 2,8.

Tabelle 15: Übersicht über die Ergebnisse der QTL-Berechnungen nach der Feinkartierung. Angegeben sind die Chromosomen, die jeweilige QTL Kartierungsmethode, der LOD-Wert, die Signifikanzgrenzen, die Erklärung der Merkmalsausprägung (% Expl.), sowie der korrelierende Marker mit dem Signifikanzniveau nach der Kruskal-Wallis-Analyse mit $P = 0,01$. Außerdem ist das Konfidenzintervall LOD-1 angegeben.

LG	Mapping Methode	LOD-Wert	Signifikanzgrenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall in cM
14	IM	9,76	3,0	21,8	GF14-42	74,59-78,09
	MQM	10,48		21,5		74,21-75,80
16	IM	3,10	2,8	7,5	VCHR16c_158	24,24-43,17
	MQM	4,23		8,5		23,40-43,07

4 DISKUSSION

4.1 Kultur von *Guignardia bidwellii*

Die grundlegende Voraussetzung für die Arbeiten zur Kartierung von Resistenzloci war die Etablierung der Kultur des Erregers der Schwarzfäule *Guignardia bidwellii* am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof. Dies wurde nach Caltrider (1960) und Jailloux (1992) erfolgreich durchgeführt und durch die Umstellung von einer 12-stündigen Beleuchtung auf Dauerlicht während der Wachstumsphasen des Pilzes optimiert. Durch die Isolation des stärker sporulierenden Isolats Gf10 wurden die Versuche deutlich vereinfacht, da weniger Arbeitsaufwand für die Herstellung großer Mengen an Sporensuspension nötig war. Zusätzlich wurde bei der Verwendung des Isolats Gf10 eine höhere Befallshäufigkeit in der untersuchten Kreuzungspopulation festgestellt. Molitor (2009) gibt für das Isolat Mo05 eine Sporulationsaktivität von $10^4 - 10^5$ Konidien/ ml an. Unter der Annahme einer Sporenanzahl von 10^5 scheint eine dauerhafte *in vitro*-Kultur von *Guignardia bidwellii* trotz der halbjährlichen Blattpassage zu einer verringerten Virulenz zu führen. Dies zeigt sich deutlich in der Stärke der Sporulationsaktivität, die bei dem Isolat Gf10 im Vergleich zum älteren Isolat Mo05 um eine Zehnerpotenz erhöht ist (vgl. 2.1.1). Für zukünftige Arbeiten ist es daher sinnvoll von Beginn an ein oder mehrere neue Isolate zu gewinnen, um Versuche ohne die Gefahr einer Verringerung der Virulenz durchzuführen. Für Kartierungsarbeiten von Resistenzmerkmalen wird durch die Verwendung unterschiedlicher Isolate zudem die Chance verringert, isolatspezifische QTL zu detektieren.

4.2 Die Phänotypisierung der Reben

4.2.1 Vergleichbarkeit verschiedener Versuchsvarianten und Phänotypisierung von Sorten

Grundsätzlich wurden die Versuche zur Phänotypisierung von Sorten unter künstlichen Infektionsbedingungen in drei Varianten durchgeführt: Im Klimaraum, im Gewächshaus und durch die Infektion einzelner Triebe im Freiland. Alle Varianten führten zu Befall durch Schwarzfäule und sind daher prinzipiell anwendbar. Sie unterscheiden sich im Aufwand der Durchführung. Im Klimaraum waren witterungsunabhängige Versuche erzielbar und die Störfaktoren durch veränderte Umweltbedingungen damit vernachlässigbar. Zudem konnte im Klimaraum eine hohe relative Luftfeuchte (tagsüber nahezu 100 %, nachts 60 %) eingestellt werden, die für die Infektionen unerlässlich ist. Weiterhin ermöglichte der Klimaraum die Versuchsdurchführung über die gesamte Vegetationsperiode von April bis September. Im Freiland war die Vegetationsperiode deutlich kürzer und die Witterungsbedingungen führten zu Schwierigkeiten der Beurteilung. Versuche konnten dort nur unter warmen und feuchten Bedingungen durchgeführt werden, um eine erfolgreiche Schwarzfäuleinfektion zu erhalten. Dies war nur in günstigen Witterungsperioden und durch die Verwendung von Kunststoffolien erzielbar. Auch war es schwierig, die Vorarbeiten zur Herstellung der Konidiensuspension so durchzuführen, dass sie zum Zeitpunkt der günstigen Infektionsbedingungen einsatzbereit waren, da eine hergestellte Konidiensuspension nicht länger als 14 Tage aufbewahrt werden sollte, um einen Verlust der Keimaktivität auszuschließen. Generell wurde bereits durch andere Untersuchungen (Bellin et al. 2009) bestätigt, dass sich Freilandmaterial weniger zuverlässig für Resistenzevaluierungen eignet als Material von Topfreben. Diese Methode eignet sich somit nur, um einzelne Genotypen zu charakterisieren, aber nicht, um eine umfangreiche Kreuzungspopulation von mehr als 202 Individuen zu untersuchen. Auch Versuche in nicht klimatisierten Gewächshäusern stehen unter Witterungseinfluss. Im Sommer überschritten die Temperaturen oft 30 °C und die relative Luftfeuchte war in Gewächshäusern in der Regel für optimale Infektionsbedingungen zu gering. Dieses Problem konnte durch die

Verwendung von Kunststofftüten über den Pflanzen während der Inkubationszeit gelöst werden (vgl. 2.2.3.1), was jedoch einen deutlich höheren Arbeitsaufwand darstellte. Diese Methode ist daher ebenfalls nur bei einer geringen Anzahl von Genotypen zu empfehlen.

Die an allen drei Versuchsorten künstlich infizierten und mit dem 5-Klassensystem bonitierten Sorten wurden in Tabelle 10 des Ergebnisteils mit den jeweiligen Boniturnoten nebeneinandergestellt. Zusätzlich wurde der Mittelwert angegeben. Die Ergebnisse zeigen, dass die Daten unabhängig von dem Ort des Versuches vergleichbare Werte liefern. Daten, die im Klimaraum gewonnen wurden, sind denen im Freiland sehr ähnlich. Eine eindeutige Einordnung der Sorten als anfällig, mittel oder resistent war unter allen Versuchsbedingungen möglich. Somit sind die Sorten 'Felicia', 'Merzling', 'Villard Blanc' und der Zuchtstamm Gf.Ga-47-42 resistent. Dagegen sind die Sorten 'Lemberger', 'Müller-Thurgau', 'Primitivo', 'Reberger', 'Trollinger' und der Zuchtstamm Gf.Ga-52-42 anfällig für Schwarzfäulebefall. Die Sorten 'Villaris' und 'Regent' besitzen eine mittlere Anfälligkeit. Der Sortenvergleich ist in Abbildung 15 veranschaulicht.

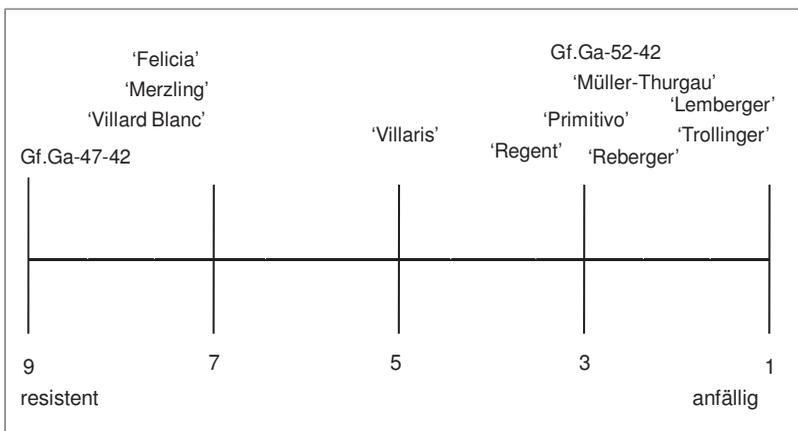


Abbildung 15: Resistenzverhalten von zwölf Sorten und Zuchtstämmen, die unter drei verschiedenen Versuchsbedingungen infiziert und charakterisiert wurden. Grundlage der Darstellung ist der Mittelwert aus allen Boniturergebnissen (vgl. Tabelle 10).

Damit liefern 'Felicia', 'Merzling', 'Villard Blanc' und der Zuchtstamm Gf.Ga-47-42 weitere Resistenzquellen zu den aus *V. riparia* und *V. cinerea* bekannten Resistenzen gegenüber der Schwarzfäule. Eine Betrachtung der Stammbäume dieser Sorten im VIVC (*Vitis* International Variety Catalogue; www.vivc.de; Stand April 2012) zeigt Übereinstimmungen hinsichtlich der Abstammungen auf. Die einzige Sorte, die allen vier Stammbäumen gemeinsam ist, ist die Sorte 'Munson'. Zudem wurden die Genotypen des Stammbaums von 'Villard Blanc' (soweit verfügbar) im Rahmen von Freilandhebungen bonitiert (Daten nicht gezeigt). Unter ihnen ist 'Munson' ein Resistenzträger. Ein Elternteil von 'Munson' ist *V. rupestris* Scheele, der andere ist Jaeger 43, eine Selektion aus *V. linccumii* Buckley. Die Stammbäume der untersuchten Sorten selbst sind jedoch komplex: so ist 'Villard Blanc' auch Großelternteil im Stammbaum von 'Felicia' und 'Seyval Blanc' ein gemeinsamer Elternteil des Zuchtstamms Gf.Ga-47-42 und von 'Merzling'. 'Seyval Blanc' wiederum trägt 'Munson' als Vorfahren im Stammbaum. *V. rupestris* oder *V. linccumii* wären damit mögliche Resistenzquellen und Genotypen, die auf diese Arten zurückgehen, potentielle Resistenzträger gegenüber der Schwarzfäule. Ein Weg diese Aussage zu überprüfen wären Markeranalysen. Analysen mit den in dieser Arbeit entwickelten, gekoppelten molekularen Markern (vgl. 3.7.1) waren jedoch nicht erfolgreich (Daten nicht gezeigt), da diese Marker für *V. cinerea* und *V. riparia* aussagekräftig sind, aber für andere genetische Hintergründe nicht. Eine Kreuzungspopulation Gf.Ga-47-42 x 'Villard blanc' steht am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof für eine QTL-Kartierung zur Verfügung. Durch die Methoden, die aus der vorliegenden Arbeit resultieren, können mit dieser zweiten Population zeitnah QTL-Analysen durchgeführt werden. Dadurch wird überprüfbar, ob ein oder mehrere weitere Resistenzloci aus den genannten *Vitis*-Arten vorliegen und diese neben den in dieser Arbeit bereits identifizierten QTL eine Option für eine Pyramidisierung von Resistenzen bieten.

4.2.2 Die Infektionsversuche an Blättern und Blattscheiben

Die Schwarzfäule-Infektionsversuche an Topfreben sind aufwendig. Daher ist die Entwicklung eines Testsystems mit Blättern bzw. Blattscheiben, ähnlich wie es für den Falschen Mehltau beschrieben ist, hilfreich. Aus diesem Grund wurden verschiedene Versuchsreihen mit Blattscheiben, Blättern in Wasser oder Wasseragar durchgeführt, die jedoch nicht zu dem angestrebten Ergebnis führten, da sie sich nicht mit der Schwarzfäule infizieren ließen. Die Schwierigkeit bei den Versuchen bestand unter anderem in einer bereits bekannten Altersresistenz der Rebblätter gegen die Schwarzfäule (Molitor, 2009). Versuche von Molitor an Blattscheiben und einzelnen Beeren führten ebenfalls nicht zu Schwarzfäulebefall. In der Regel werden nur Blätter befallen, die sich noch im Wachstum befinden (Jabco et al. 1985). Desweiteren sind die ersten Symptome der Schwarzfäule frühestens nach 10 Tagen zu beobachten. Dafür müssen die Blätter lange frisch und frei von anderen Fäulnispilzen gehalten werden. In den Versuchsaufbauten war dies lediglich durch die Verwendung von Wasser an Stelle von Wasseragar zu gewährleisten. Da jedoch keine Symptome auf einzelnen Rebenblättern beobachtet wurden, stellt der Infektionstest an Topfreben momentan die einzige Möglichkeit dar, Reben bezüglich ihrer Anfälligkeit für die Schwarzfäule zu charakterisieren.

Auch die Ergebnisse der mikroskopischen Untersuchungen an Blattscheiben unterstützen diese Aussagen. Auf Blattscheiben waren anfällige und resistente Sorten nicht unterscheidbar, da die Ergebnisse sehr divers waren. Es wurde keine Korrelation zwischen der Anzahl der keimten Konidien auf Blattscheiben und dem Grad der Resistenz beobachtet. Dies spricht dafür, dass eine Evaluierung der Schwarzfäuleresistenz anhand von Blattscheiben unter den gegebenen Umständen nicht möglich ist. Eine Ursache dafür ist vermutlich die Lebensweise des Erregers. Anders als bei Oomyceten und vielen anderen parasitären Pilzen dringt er nicht in die Zellen des Wirts ein und bildet Haustorien zur Nahrungsaufnahme aus, sondern wächst zwischen den Zellwänden (Ullrich et al. 2009). Die Aufnahme von Nährstoffen erfolgt über den extrazellulären Schleim, der Glucose-spaltende Enzyme enthält (Kuo und Hoch 1995; Shaw et al. 1998). In einem lebenden Blatt ist auf diese Weise die

Aufnahme von Nährstoffen gewährleistet, doch in einer Blattscheibe, die einen veränderten Nährstofftransport aufweist, scheint keine Etablierung des Pilzes möglich zu sein.

4.2.3 Phänotypisierung der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner'

Die ersten Versuche an drei Rebstecklingen je Genotyp im August und September 2009 (2009-KR-02) zeigten, dass die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' bezüglich der Schwarzfäuleanfälligkeit segregiert und somit für die Kartierungsarbeiten geeignet ist. Grundsätzlich wies 'Börner' nie Befall auf und der Zuchtstamm V3125 schwankte zwischen einer mittleren Anfälligkeit bis hin zu sehr anfällig. Die folgenden Versuche der Saison 2010 (2010-KR-03, -04, -05) lieferten Ergebnisse aus drei unabhängigen Wiederholungen und bildeten eine gute Grundlage für die ersten QTL-Analysen. Zusätzlich war es in der Saison 2010 möglich Freilandhebungen der Kreuzungspopulation durchzuführen (2010-GF-01), welche die Untersuchungen im Klimaraum ergänzten und bestätigten. Die Versuche im Klimaraum der Vegetationsperiode 2011 (2011-KR-06, -07, -08) ergaben gute und solide Datensätze, so dass die Phänotypisierung mit einer gebührenden Menge an Daten erfolgreich beendet wurde. Mit der kompletten Kreuzungspopulation wurden demnach sechs unabhängige Wiederholungen unter standardisierten Bedingungen durchgeführt. Durch die Verwendung von 3 Stecklingen je Genotyp lagen für jeden Genotyp mindestens 18 Datenpunkte vor. Zudem erhöht sich die Anzahl der Datenpunkte noch bei einem Großteil der Genotypen durch die Erhebungen im Freiland und die Klimaraumversuche im Jahr 2009. Somit lag für die QTL-Analysen eine große Menge an Datenpunkten vor und deren Ergebnisse sind auf soliden Datensätzen begründet.

Grundsätzlich war die Versuchsanordnung ein wichtiges Resultat der vorliegenden Arbeit. Die Verwendung von drei Rebstecklingen je Genotyp führte zu eindeutigen Ergebnissen. Auch die Durchführung der Versuche in einem Klimaraum brachte viele Vorteile mit sich. Die Versuche waren unabhängig von Einflüssen durch die Witterung. Freilandhebungen waren beispielsweise 2011 aufgrund fehlender natürlicher Befallsbedingungen nicht durchführbar. Zudem war es im Klimaraum möglich, mehrere

Versuchswiederholungen in einer Saison zu realisieren. Dies lieferte eine große Anzahl an Daten in vergleichsweise kurzer Zeit. Durch die artifizielle Infektion von Sorten im Gewächshaus und im Freiland wurde zusätzlich gezeigt, dass die Ergebnisse, die im Klimaraum erhoben wurden, auf die natürlichen Bedingungen im Freiland übertragbar sind (vgl. 3.3.1).

4.2.4 Evaluierung der Boniturschemata

Alle im Rahmen des Projektes entwickelten Boniturschemata erwiesen sich in der Praxis je nach Verwendungszweck als anwendbar und aussagekräftig, um den Grad der Schwarzfäuleresistenz zu charakterisieren. Schwierigkeiten ergaben sich durch die mangelnde Vergleichbarkeit der Boniturdaten des Klimaraums und des Freilands aufgrund der Boniturschemata: Die Werte durch Zählen der befallenen Blätter beispielsweise sind zwischen Topfreben und Reben im Freiland nicht vergleichbar, da Pflanzen im Freiland eine unüberschaubare Anzahl an Blättern besitzen. Auch das Schätzen der Befallsstärke ist im Feld aus diesem Grund kaum realisierbar. Bei dieser Methode ist zudem viel Erfahrung nötig, um das Verhältnis der befallenen Blattfläche zur Gesamtblattfläche zuverlässig zu schätzen. Es stellte sich heraus, dass das 5-Klassensystem der beste Weg ist, Versuche, die unter verschiedenen Bedingungen durchgeführt wurden, zu vergleichen. Da ähnliche Systeme bereits für andere Schadpilze im Weinbau verwendet werden (OIV 2009), kann es bei zukünftigen Untersuchungen zur Schwarzfäule problemlos angewendet werden. Das System basiert analog den OIV-Richtlinien für die Bonitur der Mehltaukrankheiten und der Grauschimmelfäule auf 5 Klassen und ist bezüglich der Beschreibungen der Symptom-Ausprägungen vergleichbar aufgebaut (vgl. Tabelle 5). Zudem schließt es die übrigen Bonitursysteme, wie beispielsweise das Vorhandensein von Pyknidien ein.

Für die QTL-Analysen zeigte sich, dass alle verwendeten Bonitursysteme zu QTL in den gleichen Kartierungsabschnitten führten. Unterschiede bestanden lediglich darin, dass QTL bei einzelnen Prüfmerkmalen nicht durch beide statistische Verfahren, also durch das IM und die Kruskal-Wallis-Analyse gleichermaßen, sondern nur durch jeweils eine dieser Methoden, detektiert

wurden. Auch hier ist die Fokussierung auf ein einziges Bonitursystem zweckdienlich, um die Auswertung der Daten zu vereinheitlichen und zu vereinfachen. Zusätzlich wurden durch den Einsatz des 5-Klassensystems bei jedem Datensatz alle QTL detektiert. Keines der entwickelten Boniturschemata führte jedoch zu einem normalverteilten Datensatz, wie sie für die Verwendung für QTL-Analysen benötigt wird. Allerdings traten durch die Verwendung des 5-Klassensystems deutlich weniger Ausreißer auf, wodurch sich die Abweichung von der Normalverteilung reduzierte. Zur Absicherung der Ergebnisse empfiehlt es sich, ein metrisches Prüfmerkmal, wie das Zählen der befallenen Blätter, mitzuführen. Auf diese Weise erfolgt eine Kontrolle der geschätzten Bonituren in Klassen bezüglich der Detektion aller QTL.

Zu Beginn der Arbeiten stand kein bewährtes Boniturschema zur Verfügung. Verschiedene Boniturschemata wurden deshalb entwickelt und getestet. Die Entwicklung des 5-Klassensystems stellte einen deutlichen Fortschritt dar und die Verwendung dieses Systems in Anlehnung an die im Weinbau verwendeten OIV-Richtlinien für Rebkrankheiten liefert viele Vorteile auch bezüglich der QTL-Analysen. Es wird sicherlich auch in Zukunft bei Infektionsversuchen zur Schwarzfäule eingesetzt werden.

4.3 Mikroskopische Untersuchungen

Die mikroskopischen Untersuchungen lieferten einen guten Einblick in die Biologie von *Guignardia bidwellii* und in die Resistenzmechanismen, welche die untersuchten Reben vor einem Befall schützen.

Durch den Tuschenachweis wurden Mycel, Konidien und der extrazelluläre Schleim sichtbar. Kuo und Hoch (1995) beschrieben bereits, dass der Schleim Glucose spaltende Enzyme enthält. Der Schleim trägt dieser Studie zufolge zur Aufnahme von Nährstoffen und zur Erleichterung des Eindringens des Appressoriums durch die Cuticula bei.

Die Ergebnisse der Versuche, die mit Pflanzenmaterial der Sorten aus den Infektionsversuchen durchgeführt wurden, waren eindeutig. Resistente Sorten und anfällige Sorten unterscheiden sich bereits in frühen Infektionsstadien. Bei anfälligen Sorten lag die Keimungsrate der Konidien deutlich höher als bei

resistenten Sorten. Nach etwa acht Tagen waren bei anfälligen Sorten Hyphennetze zu erkennen, bei einigen Sorten auch bereits nach vier Tagen. Bei resistenten Sorten keimt offenbar nur ein geringerer Prozentsatz der ausgebrachten Konidien und wenn sich Appressorien bilden, dringen diese nicht in das Blatt ein. Dies führt dazu, dass die Befallsentwicklung nach vier bis acht Tagen in den meisten Fällen identisch mit der Befallsentwicklung nach einem oder vier Tagen ist. Die Sorten 'Müller-Thurgau', 'Regent', 'Trollinger' und 'Riesling' sind anfällig für Schwarzfäule. Dies deckt sich mit den Ergebnissen der Phänotypisierung der Sorten im Versuch im Klimaraum (vgl. 4.2.1). Die Infektion mit Schwarzfäule zeigte auf 'Regent' in den Wiederholungen unterschiedliche Verläufe. In der ersten Wiederholung wurde eine relativ geringe Keimrate von 30 % beobachtet und die Konidien bildeten keine Infektionshyphen. In der zweiten Wiederholung hingegen lag die Keimrate von *Guignardia bidwellii* bei 95 % und nach acht Tagen wurden Hyphennetze festgestellt. Dies ist vermutlich darauf zurückzuführen, dass in der ersten Wiederholung ein zu weit entwickeltes Blatt aus dem Versuch entnommen wurde, welches bereits eine Altersresistenz aufwies.

Auf 'Merzling' wurden auch Hyphennetze gefunden. Dies widerspricht den Ergebnissen der oben genannten Versuche nicht, da 'Merzling' dort keine vollständige Resistenz aufweist, sondern lediglich reduzierten Befall zeigt. Die Sorten 'Felicia' und 'Villaris' zeigten keine Hyphennetze, was sich mit den beschriebenen Ergebnissen der Phänotypisierung der Topfreben deckt und 'Felicia' beziehungsweise auch andere Nachfahren der Wildartakzession *V. rupestris* oder *V. lincedumii* als potentielle weitere Kandidaten als Resistenzträger gegen die Schwarzfäule bestätigt.

Auch die Eltern und Großeltern der Kreuzungspopulation wurden in die mikroskopischen Untersuchungen einbezogen. Der Zuchtstamm V3125 verhält sich erwartungsgemäß ähnlich wie die anfälligen Kreuzungseltern 'Trollinger' und 'Riesling'. Auf 'Börner' bildeten sich zwar Appressorien aus, mit denen dem Pathogen ein Eindringen in das Blatt jedoch nicht möglich war. Da 'Börner' eine Hybride aus *V. cinerea* und *V. riparia* ist, wurden diese Wildartenakzessionen auch untersucht. So bildete das Pathogen auch auf Blättern von *V. cinerea* nur

wenige Appressorien, die nicht in das Blatt eingedrungen sind. Auf *V. riparia* wurde im ersten Versuch kein Eindringen des Pilzes durch Appressorien in das Blatt beobachtet, in der Wiederholung jedoch waren Hyphennetze sichtbar. Dies entspricht den Beobachtungen aus den übrigen Phänotypisierungen. *V. riparia* trägt zwar Resistenzmechanismen, aber diese vermitteln keine vollständige Resistenz. Gleichzeitig bestätigt dies auch die These, dass Reben, die bereits mit *Guignardia bidwellii* infiziert wurden, in der Wiederholung stärkeren Befall zeigen. Grundsätzlich scheinen sich in 'Börner' zwei verschiedene Resistenzmechanismen zu vereinigen.

Diese Resistenzmechanismen wehren den Pilzbefall bereits in einem frühen Stadium ab. War ein Eindringen des Pilzes in das Blatt möglich, bildeten sich in der Regel auch Hyphennetze aus. Mehrere Gründe sind für ein fehlendes Auskeimen oder das Ausbleiben der Appressorienbildung bekannt. Zunächst ist ein Anheften der Spore auf einem hydrophoben Substrat nötig. Wird dieses beispielsweise durch eine Behaarung verhindert, bricht der Keimungsprozess wie von Shaw und Hoch (2000) beschrieben ab.

Durch das Anheften der Spore an der Blattoberfläche flacht diese ab und es entstehen Spannungen der Plasmamembran. Dies führt dazu, dass sich mechano-sensitive Ionen-Kanäle öffnen und Ca^{2+} -Ionen einströmen. Diese Kationen sind das Startsignal für eine Signaltransduktionskaskade, die zur Keimung der Konidie führt. Hier findet sich nach dem Anheften ein weiterer Grund für ein fehlendes Auskeimen der Sporen. Ist auf der Blattoberfläche kein Ca^{2+} vorhanden, wird die Keimung nicht induziert. Andere Kationen verhindern ein Auskeimen der Konidie, was Shaw et al. (1998) belegten. Gleichzeitig vermuteten die Autoren, dass der vom Pilz gebildete Schleim wichtig für das gegenseitige Erkennen bzw. Abstoßen von Wirt und Pathogen ist. An diesem Punkt der Keimung ist auch eine Abwehrreaktion des Wirtes vorstellbar. Ausgebildete Appressorien sind melaninhaltig (Kuo und Hoch 1995). Dies erhöht den Turgordruck und ist notwendig für die Penetration durch die Cuticula. Die Autoren vermuteten, dass die Altersresistenz der Rebblätter durch die Zunahme der Dicke der Cuticula bedingt ist und der Pilz diese bei entwickelten Blättern nicht mehr durchstoßen kann. Dies ist auch ein denkbarer

Faktor für eine Resistenz von Rebsorten. Offen bleibt durch die mikroskopischen Methoden, ob es Resistenzantworten oder Mechanismen der Rebe gibt, die ein Pilzwachstum nach dem Eindringen verhindern.

Die mikroskopischen Untersuchungen an Blattmaterial führten zu einer qualitativen Aussage über den Grad der Resistenz. Eine quantitative Bestimmung war jedoch nicht möglich. Für diese wurde der Versuchsaufbau mit einer mikroskopischen Auswertung von Blattscheiben entwickelt. Die Ergebnisse waren allerdings sehr divers und auch eine Verringerung des Zeitraumes von 21 h auf 6 h zwischen Infektion und Auswertung führte nicht zu klaren Beobachtungen. Blattscheiben sind demnach keine geeignete Grundlage für eine Überprüfung der Resistenz gegen die Schwarzfäule. Die mikroskopischen Untersuchungen im Rahmen der Infektionsversuche an Stecklingen liefern demgegenüber eindeutige Resultate bezüglich des Resistenzgrads der jeweiligen Sorte.

4.4 QTL-Berechnungen und Feinkartierung

Grundlage für die Phänotypisierung waren zwei *Guignardia bidwellii* Isolate, die aus verschiedenen Weinanbaugebieten stammten (Mosel und Pfalz). Dadurch wurde erreicht, die Nachkommen der Kreuzungspopulation mit verschiedenen Isolaten zu infizieren und die Gefahr zu verringern, dass isolatspezifische QTL detektiert wurden.

Die Isolate wurden für sechs unabhängige Wiederholungen der Infektionsversuche verwendet (vgl. Tabelle 3). Zusätzlich wurden Freilandhebungen und Vorversuche im Jahr 2009 durchgeführt. Die Daten dieser Resistenzevaluierung sind nicht normalverteilt. Somit liegen keine optimalen Bedingungen für die QTL-Analysen durch das IM und das MQM vor, da eine Normalverteilung des Merkmals in der Kreuzungspopulation die statistische Grundlage bildet. Deswegen wurden die Ergebnisse zusätzlich durch die Anwendung der Kruskal-Wallis-Analyse abgesichert und nur QTL, die durch beide Methoden detektiert wurden als „wahr“ angesehen (Constantini et al. 2009). Die Verwendung von Daten, die aus bis zu acht unabhängigen Wiederholungen stammten, ließ eindeutige Aussagen zu. Die ermittelten QTL

auf den Chromosomen 14 und 16 sind somit mehrfach reproduzierbar und ausreichend abgesichert.

Bei einer Kombination von 18 Datenpunkten je Genotyp im Datensatz „Gesamt“ wurde eine Erklärung der Varianz der gesamten Merkmalsausprägung von nahezu 40 % (14: 18,5%; 16: 7,3%; 13: 12,3%) erreicht. Gleichzeitig reduzierte sich die Anzahl der QTL auf drei. Im Gegensatz dazu treten in den Einzelanalysen der Daten der Versuchsdurchläufe verschiedene Neben-QTL und eine relativ geringe Erklärung der Varianz der Merkmalsausprägung auf. Das Auftreten mehrerer QTL ist im Fall der vorliegenden Kreuzungspopulation möglich: Resistenzen können polygen bedingte Merkmale sein (Holland 2007). Die Verwendung von zwei Wildartenakzessionen, *V. riparia* und *V. cinerea*, könnte in 'Börner' zur Zusammenführung mehrerer Loci geführt haben. Beide Wildarten sind in Nordamerika im natürlichen Verbreitungsgebiet von *Guignardia bidwellii* beheimatet. Die Koevolution von Wirt und Pathogen über einen langen Zeitraum führte möglicherweise zur Überwindung und dem Entstehen neuer Resistenzmechanismen. Bereits vom Pathogen überwundene Mechanismen sind dennoch in der Lage, das Resistenzverhalten der Pflanzen zu beeinflussen und werden dementsprechend bei QTL-Analysen detektiert. Das Auffinden einer Vielzahl an QTL ist demnach auf mehrere Gründe zurückzuführen. Gleichzeitig ist auch das MQM eine Methode, die zwar mehrere, aber nicht zwangsläufig alle QTL detektieren kann (Jansen und Stam 1994). Dies ist eine mögliche Erklärung für die fehlende Reproduzierbarkeit der zusätzlich zu den Haupt-QTL gefundenen Neben-QTL. Die Vielzahl an gefundenen QTL erklärt auch den geringen Anteil der jeweiligen QTL an der Merkmalsausprägung. Je mehr QTL an der Merkmalsausprägung beteiligt sind, desto geringer wird ihr jeweiliger Anteil an der Ausprägung.

Der QTL auf dem Chromosom 14 wird durch die Ergebnisse aus allen Versuchen bestätigt und ist daher der eindeutigste QTL in der untersuchten Kreuzungspopulation, der wahrscheinlich maßgeblich an der Resistenzausprägung beteiligt ist, da dieser mit 21,7% den größten Anteil der Varianz der Merkmalsausprägung erklärt. Benannt wurde er daher als *Rgb1*

(„Resistance *Guignardia bidwellii* 1“, in Anlehnung an die Benennung bisheriger Resistenzloci beispielsweise gegen die Mehltauerreger der Weinrebe (Blasi et al. 2011; Hoffmann et al. 2008; Schwander et al. 2012). Die Eingrenzung des Locus durch Feinkartierung des Chromosoms war erfolgreich. Neue Marker führten zu einer deutlichen Reduktion des Konfidenzintervalls von 13,1 cM auf 1,6 cM und einer Annäherung an den Resistenzlocus (vgl. Abbildung 13). Das resultierende Konfidenzintervall von 1,6 cM des MQM entspricht 287 kb in der Referenzgenomsequenz PN40024. Für eine weitere Eingrenzung ist jedoch die Verfügbarkeit der Sequenz des Resistenzdonors ‘Börner’ notwendig. Diese wird zurzeit erarbeitet und bald für weitere Untersuchungen zur Verfügung stehen (Hausmann, persönliche Mitteilung).

In der Referenzgenomsequenz (www.genoscope.cns.fr) sind Gene in diesen 287 kb annotiert, die Resistenzfaktoren darstellen könnten. Zwei LRRs (Leucin Rich Repeat) sind im Bereich des QTL vorhergesagt (im Bereich von 24730 kb und 25942 kb auf Chromosom 14 in der Referenzgenomsequenz), deren Funktion die Erkennung von Pathogenen durch Steroidhormone ist. Ebenso ein TIR-ähnlicher-Auxin-Rezeptor (25050 kb) und ein WRKY-Transkriptionsfaktor (25479 kb), für die eine Beteiligung an der Resistenzantwort bei Pflanzen nach Befall durch Krankheitserreger nachgewiesen wurden (Bent und Mackey 2007). Somit wurden in der Referenzgenomsequenz im homologen Bereich des QTL von ‘Börner’ Gene vorhergesagt, die mit Resistenzantworten der Pflanzen im Zusammenhang stehen. Allerdings ist für eine Überprüfung dieses Zusammenhangs ein Sequenzvergleich auf der Grundlage der Sequenz von ‘Börner’ notwendig, um Unterschiede festzustellen, da PN40024 als Selbstungsnachkomme der europäischen Kulturrebe ‘Pinot Noir’ keine Resistenzen gegen die Schwarzfäule trägt (Demaree et al. 1937) und der Sequenzbereich in den Wildreben mit großer Wahrscheinlichkeit von der Modellgenomsequenz abweicht wie für den Reblauslocus aus ‘Börner’ gezeigt wurde (Hausmann et al., unveröffentlicht). Deshalb wird im Nachgang zur vorliegenden Dissertation eine Sequenzierung des Locus aus einer ‘Börner’-BAC-Bank angestrebt. Auf Grundlage der erworbenen Sequenzdaten werden

Sequenzvergleiche und Genvorhersagen durchführbar, die Aufschluss über die Beschaffenheit des Resistenzlocus geben können.

Nicht eindeutig wurde die Frage geklärt, ob *Rgb1* auf *V. riparia* oder *V. cinerea* zurückgeht. Bei der Betrachtung der Verteilung der Fragmentlängen in der väterlichen Karte mit dem Programm MapQTL werden im Zusammenhang mit verschiedenen Boniturschemata unterschiedliche Resistenzdonoren angegeben. Bei der Verwendung des 5-Klassensystems scheint *V. cinerea* der Resistenzdonor zu sein, bei der Betrachtung der Anzahl der befallenen Blätter jedoch *V. riparia*. Bei einer manuellen Gegenüberstellung der Fragmentlängen (Daten nicht gezeigt) der relevanten SSR-Marker (GF14-42 und GF14-48_284) mit resistenten Genotypen der Population weisen diese eine Tendenz zu *V. riparia* als Resistenzdonor auf. Resistente Genotypen besitzen im Bereich des QTL häufiger die Fragmentlängen von *V. riparia* als von *V. cinerea*. Dies kann auf mehrere Ursachen zurückgeführt werden. Einerseits liegen möglicherweise starke Wechselwirkungen mit anderen QTL vor, welche die Resistenz beeinflussen. Andererseits ist es denkbar, dass die gewählten Methoden Auflösungsgrenzen haben. Wenn es Resistenzfaktoren gibt, die beide Arten auf dem Chromosom 14 besitzen und diese dicht zusammen liegen, liefern SSR-Marker keine ausreichende Auflösung, diese zuverlässig zu detektieren. Die Marker stellen zwar einen Zusammenhang mit der Resistenz her, eine Unterscheidung des Resistenzdonors ist allerdings nicht Teil der Analyse.

Ein Weg zur Klärung der Frage nach dem Resistenzdonor ist die QTL-Kartierung der Schwarzfäuleresistenz anhand der ersten Rückkreuzung eines resistenten Genotyps der Population mit einer anfälligen *V. vinifera*-Sorte. Vermutlich werden durch die Erhöhung des Anteils an *V. vinifera*-Genom und der Reduktion von Wildartgenomanteil die Ergebnisse eindeutiger, da die Anzahl der einflussnehmenden QTL reduziert wird. Die bereits erwähnte Sequenzierung des Locus aus einer 'Börner'-BAC-Bank und der Sequenzvergleich wird bei der Klärung des Resistenzdonors aufschlussreich sein. Die Erweiterung der Kreuzungspopulation ist die zweite Möglichkeit den Resistenzdonor zu identifizieren und den QTL weiter einzuzugrenzen. Bei einer

Erweiterung der Population nimmt die Anzahl der erfassten Rekombinationspunkte zu und molekulare Marker können präziser positioniert werden (Welter et al. 2011).

Neben Chromosom 14 wurde das Chromosom 16 für eine Feinkartierung ausgewählt, da der ermittelte QTL (*Rgb2*) bei nahezu allen Experimenten im Klimaraum und auch bei der Verrechnung der im Freiland erhobenen Datensätze reproduzierbar detektiert wurde. Die geringe Markerabdeckung lässt jedoch keine präziseren Aussagen bezüglich der Lage des QTL zu. Auch das Kartieren weiterer neuentwickelter Marker führte nicht zu der gewünschten Klarheit, also zur Eingrenzung des QTL. Jedoch ist durch die großen Bereiche, die nicht mit Markern abgedeckt wurden, zu vermuten, dass durch neue Marker in diesen Lücken bessere Aussagen möglich sind. Die Entwicklung von Primern anhand der Referenzgenomsequenz gestaltete sich bezüglich der Kopplungsgruppe 16 jedoch als schwierig. Das Chromosom weist eine Vielzahl an repetitiven Sequenzen auf. Entwickelte Primer binden meist an mehreren Stellen auf dem Chromosom. Primerpaare mit eindeutigen Bindungsstellen waren meist monomorph und damit nicht informativ für die Erstellung einer Kopplungskarte oder lieferten kein PCR-Produkt. Deshalb wurden lediglich neun der 31 getesteten Marker in der Kartierung ergänzt. Die Schwierigkeiten bei der Markerentwicklung für Chromosom 16 wurden auch bei anderen Kartierungsprojekten des Instituts festgestellt (Martina Bonow-Rex; persönliche Mitteilung).

Der QTL auf dem Chromosom 4 wurde zu Beginn der Arbeiten bei einzelnen Berechnungen mit den Daten aus den Versuchen 2009-KR-02 und 2010-KR-03 erhalten. Im Jahr 2010 wurde er allerdings nicht reproduziert. Eine Feinkartierung wurde aus diesem Grund nicht durchgeführt. Auffällig ist an dieser Stelle, dass der QTL nur bei einzelnen Berechnungen mit den Daten aus den Versuchen 2009-KR-02 und 2010-KR-03 erhalten wurde. Diese beiden Versuche wurden nur mit dem Isolat Mo05 durchgeführt. Bei einer gemeinsamen Verrechnung aller Ergebnisse der Versuche, die mit dem Isolat

Mo05 durchgeführt wurden, wurde jedoch lediglich der QTL auf dem Chromosom 16 ermittelt. Das Ergebnis steht im Gegensatz zu den Resultaten der Einzelberechnungen und deutet auf einen falsch-positiven QTL hin, der vermutlich aus einer nicht ausreichenden Anzahl an Daten oder aus der Verwendung des Isolats mit einer geringen Sporulationsaktivität resultiert.

Weitere Neben-QTL, beispielsweise auf Chromosom 13, zeigten eine hohe Reproduzierbarkeit. Diese wurden allerdings nicht feinkartiert, da ihr relativ kleiner Anteil an der Varianz der Merkmalsausprägung in allen Versuchen diese als Neben-QTL ausweist, die in der Rebenzüchtung zugunsten der Haupt-QTL zunächst nicht genutzt werden.

4.5 Schlussfolgerungen

Die Grundlage für die durchgeführten Untersuchungen wurde durch die Etablierung der Kultur von *Guignardia bidwellii* und die termingerechte Produktion von ausreichenden Mengen Inokulum geschaffen. Desweiteren wurde ein Resistenztest insbesondere im Klimaraum entwickelt mit dem einerseits die Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' und andererseits für die Rebenzüchtung interessante Sorten und Genbankakzessionen phänotypisiert wurden. Im Rahmen dieses Tests wurde ein Boniturschema mit 5 Klassen entwickelt, welches sich bewährt hat und für zukünftige Untersuchungen der Schwarzfäuleresistenz zur Verfügung steht. Damit sind in der Rebenzüchtung jetzt Phänotypisierungen in einem hohen Umfang, ebenso wie schnelle Testverfahren für wenige Genotypen, verfügbar.

Zusätzlich wurden mikroskopische Untersuchungen durchgeführt, die erste Hinweise auf unterschiedliche Resistenzmechanismen lieferten, die bereits in frühen Infektionsstadien greifen. Diese sind für die Rebenzüchtung ebenso nützlich wie das Aufdecken weiterer Quellen für die Schwarzfäuleresistenz. In der vorliegenden Arbeit wurden die Sorten 'Felicia', 'Merzling' und 'Villard Blanc', sowie der Zuchtstamm Gf.Ga.47-42 als Resistenzträger und damit als Kandidaten für weitere Resistenzzüchtungen identifiziert.

Als zentrales Ergebnis liegen nun QTL und Marker für die Schwarzfäuleresistenz aus 'Börner' vor, die in der Rebenzüchtung genutzt

werden können. Die korrelierenden Marker bedürfen einer Validierung in der ersten Rückkreuzung und werden dann für die MAS eingesetzt. Durch den Abgleich mit der Referenzgenomsequenz des anfälligen PN40024 konnte gezeigt werden, dass in der QTL-Region auf Chromosom 14 Gene liegen, die mit Resistenzreaktionen in Verbindung zu bringen sind. Die enge Eingrenzung des QTL auf Chromosom 14 erlaubt im Nachgang zur vorliegenden Arbeit die Sequenzierung des QTL-Bereichs von 'Börner' und könnte im Vergleich zu PN40024 zu Kandidatengenen für die Schwarzfäuleresistenz führen. Eine anschließende funktionelle Überprüfung und die Identifikation Resistenzgen-spezifischer SNP-Marker kann eine weitere Präzisierung für die MAS in der Rebenzüchtung ergeben.

5 LITERATUR

- Agrios G.N.(2005) Plant Pathology. Elsevier, Academic Press. 952-954.
- Akkurt M., Welter L., Maul E., Töpfer R. und Zyprian E. (2007) Development of SCAR markers linked to powdery mildew (*Uncinula necator*) resistance in grapevine (*Vitis vinifera* L. and *Vitis* sp.). *Molecular Breeding* 19, 103-111.
- Arnold C., Rossetto M., McNally J. und Henry R.J. (2002) The application of SSRs characterized for grape (*Vitis vinifera*) to conservation studies in Vitaceae. *American Journal of Botany* 89, 22-28.
- Barrett H.C. (1953) A Survey of Black Rot Resistance of the foliage of Wild Grape Species. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 62, 319-322.
- Bellin D., Peressotti E., Merdinoglu D., Wiedemann-Merdinoglu S., Adam-Blondon A.F., Cipriani G., Morgante M., Testolin R. und Di Gaspero G. (2009) Resistance to *Plasmopara viticola* in grapevine 'Bianca' is controlled by a major dominant gene causing localised necrosis at the infection site. *Theoretical and Applied Genetics* 120, 163-176.
- Bent A.F. und Mackey D. (2007) Elicitors, effectors, and R genes: The new paradigm and a lifetime supply of questions. *Annu. Rev. Phytopathol.* 45, 399-436.
- Blasi P., Blanc S., Wiedemann-Merdinoglu S., Prado E., Ruhl E.H., Mestre P. und Merdinoglu D. (2011) Construction of a reference linkage map of *Vitis amurensis* and genetic mapping of *Rpv8*, a locus conferring resistance to grapevine downy mildew. *Theoretical and Applied Genetics* 123, 43-53.
- Caltrider P.G. (1960) Growth and Sporulation of *Guignardia-Bidwellii* in Pure Culture and in the Field. *Phytopathology* 50, 630-630.
- Constantini L., Moreira F.M., Zyprian E., Martinez-Zapato J.M. und Grando M.S. (2009) Molecular maps, QTL mapping & association mapping in grapevine. Ed. K. A.Roubelakis-Angelakis. Springer science + business Media B.V.
- Dalbó M.A. (1998) Genetic mapping, QTL analysis and marker-assisted selection for disease resistance loci in grapes. In Graduate School of Cornell University. Dissertation.

- Dalbó M.A., Ye G.N., Weeden N.F., Wilcox W.F. und Reisch B.I. (2001) Marker-assisted selection for powdery mildew resistance in grapes. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 126, 83-89.
- Demaree J.B., Dix I.W. und Magoon C.A. (1937) Observations on the Resistance of Grape Varieties to Black Rot and Downey Mildew. *American Society for Horticultural Science*.
- Di Gaspero G. und Cattonaro F. (2010) Application of genomics to grapevine improvement. *Australian Journal of Grape and Wine Research* 16, 122-130.
- Di Gaspero G. und Cipriani G. (2003) Nucleotide binding site/leucine-rich repeats, *Pto*-like and receptor-like kinases related to disease resistance in grapevine. *Molecular Genetics and Genomics* 269, 612-623.
- Di Gaspero G., Cipriani G., Adam-Blondon A.F. und Testolin R. (2007) Linkage maps of grapevine displaying the chromosomal locations of 420 microsatellite markers and 82 markers for R-gene candidates. *Theoretical and Applied Genetics* 114, 1249-1263.
- Doerge R.W. und Churchill G.A. (1996) Permutation tests for multiple loci affecting a quantitative character. *Genetics* 142, 285-294.
- Doligez A., Bouquet A., Danglot Y., Lahogue F., Riaz S., Meredith C.P., Edwards K.J. und This P. (2002) Genetic mapping of grapevine (*Vitis vinifera* L.) applied to the detection of QTLs for seedlessness and berry weight. *Theoretical and Applied Genetics* 105, 780-795.
- Eibach R. (1991) Grapevine varieties resistant to fungus diseases. *Weinwirtschaft Anbau*.
- Eibach R., Töpfer R. und Hausmann L. (2010) Use of genetic diversity for grapevine resistance breeding. *Mitteilungen Klosterneuburg* 60, 332-337.
- Eibach R., Zyprian E., Welter L. und Töpfer R. (2007) The use of molecular markers for pyramiding resistance genes in grapevine breeding. *Vitis* 46, 120-124.
- Fader B. (2002) Pilzwiderstandsfähige Rebsorten: Weinbau (fast) ohne Pflanzenschutz. *Das Deutsche Weinmagazin*.
- Ferrin D.M. und Ramsdell D.C. (1977) Ascospore Dispersal and Infection of Grapes by *Guignardia-Bidwellii*, Causal Agent of Grape Black Rot Disease. *Phytopathology* 67, 1501-1505.
- Fischer B.M., Salakhutdinov I., Akkurt M., Eibach R., Edwards K.J., Töpfer R. und Zyprian E.M. (2004) Quantitative trait locus analysis of fungal

- disease resistance factors on a molecular map of grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* 108, 501-515.
- Grattapaglia D. und Sederoff R. (1994) Genetic-linkage maps of *eucalyptus-grandis* and *eucalyptus-urophylla* using a pseudo-testcross-mapping strategy and RAPD markers. *Genetics* 137, 1121-1137.
- Hafner P. (1998) Börner - eine neue Rebunterlage. *Obstbau - Weinbau. Fachblatt des Südtiroler Beratungsrings*.
- Hearne C.M., Ghosh S. und Todd J.A. (1992) Microsatellites for linkage analysis of genetic-traits. *Trends in Genetics* 8, 288-294.
- Hedrick U.P.(1908) The grapes of New York : Report of the New York Agricultural Experiment Station for the Year 1907 / II. Lyon Co, Albany.
- Heibertshausen D., Baus O., Langen G., Kogel K.H., Bleyer G., Kassemeyer H.H., Loskill B., Maier K., Maixner M. und Berkelmann-Lönertz B. (2010) Kupferminimierung im ökologischen Rebschutz. *Deutsches Weinbau-Jahrbuch* 61, 113-117.
- Hoffman L.E., Wilcox W.F., Gadoury D.A. und Seem R.C. (2002) Influence of grape berry age on susceptibility to *Guignardia bidwellii* and its incubation period length. *Phytopathology* 92, 1068-1076.
- Hoffmann S., Di Gaspero G., Kovacs L., Howard S., Kiss E., Galbacs Z., Testolin R. und Kozma P. (2008) Resistance to *Erysiphe necator* in the grapevine 'Kishmish vatkana' is controlled by a single locus through restriction of hyphal growth. *Theoretical and Applied Genetics*.
- Holland J.B. (2007) Genetic architecture of complex traits in plants. *Current Opinion in Plant Biology* 10, 156-161.
- Jabco J.P., Nesbitt W.B. und Werner D.J. (1985) Resistance of Various Classes of Grapes to the Bunch and Muscadine Grape Forms of Black Rot. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 110, 762-765.
- Jabco J.P. und Werner D.J. (1984) Black Rot [*Guignardia-Bidwellii* (Ellis) Viala und Ravaz] Resistance in *Vitis*. *Hortscience* 19, 590-590.
- Jaillon O., Aury J.M., Noel B., Policriti A., Clepet C., Casagrande A., Choisne N., Aubourg S., Vitulo N., Jubin C., Vezzi A., Legeai F., Huguency P., Dasilva C., Horner D., Mica E., Jublot D., Poulain J., Bruyere C., Billault A., Segurens B., Gouyvenoux M., Ugarte E., Cattonaro F., Anthouard V., Vico V., Del Fabbro C., Alaux M., Di Gaspero G., Dumas V., Felice N., Paillard S., Juman I., Moroldo M., Scalabrin S., Canaguier A., Le Clainche I., Malacrida G., Durand E., Pesole G., Laucou V., Chatelet P., Merdinoglu D., Delledonne M., Pezzotti M., Lecharny A., Scarpelli C.,

- Artiguenave F., Pe M.E., Valle G., Morgante M., Caboche M., Adam-Blondon A.F., Weissenbach J., Quetier F. und Wincker P. (2007) The grapevine genome sequence suggests ancestral hexaploidization in major angiosperm phyla. *Nature* 449, 463-465.
- Jailloux F. (1992) In vitro Production of the Teleomorph of *Guignardia-Bidwellii*, Causal Agent of Black Rot of Grapevine. *Canadian Journal of Botany-Revue Canadienne de Botanique* 70, 254-257.
- Jansen J., de Jong A.G. und van Ooijen J.W. (2001) Constructing dense genetic linkage maps. *Theoretical and Applied Genetics* 102, 1113-1122.
- Jansen R.C. (1992) A general mixture model for mapping quantitative trait loci by using molecular markers. *Theoretical and Applied Genetics* 85, 252-260.
- Jansen R.C. (1993) Interval mapping of multiple quantitative trait loci. *Genetics* 135, 205-211.
- Jansen R.C. und Stam P. (1994) High-resolution of quantitative traits into multiple loci via interval mapping. *Genetics* 136, 1447-1455.
- Jermini M. und Gessler C. (1996) Epidemiology and control of grape black rot in southern Switzerland. *Plant Disease* 80, 322-325.
- Jones N., Ougham H. und Thomas H. (1997) Markers and mapping: we are all geneticists now. *New Phytologist* 137, 165-177.
- Kortekamp A., Welter L., Vogt S., Knoll A., Schwander F., Töpfer R. und Zyprian E. (2008) Identification, isolation and characterization of a CC-NBS-LRR candidate disease resistance gene family in grapevine. *Molecular Breeding* 22, 421-432.
- Kosambi D.D. (1944) The estimation of map distances from recombination values. *Ann Eugenics* 12, 172-175.
- Kruskal W.H. und Wallis W.A. (1952) Use of ranks in one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47, 583-621.
- Kuo K.C. und Hoch H.C. (1995) Visualization of the extracellular matrix surrounding pycnidiospores, germings, and appressoria of *Phyllosticta ampellicida*. *Mycologia* 87, 759-771.
- Kuo K.C. und Hoch H.C. (1996) Germination of *Phyllosticta ampellicida* pycnidiospores: Prerequisite of adhesion to the substratum and the relationship of substratum wettability. *Fungal Genetics and Biology* 20, 18-29.

- Lande R. und Thompson R. (1990) Efficiency of marker-assisted selection in the improvement of quantitative traits. *Genetics* 124, 743-756.
- Lander E.S. und Botstein D. (1989) Mapping Mendelian factors underlying quantitative traits using RFLP linkage maps. *Genetics* 121, 185-199.
- Lemke L., Rex M., Zyprian E. und Töpfer R. (2011) A simple, inexpensive and environmentally friendly method for high throughput DNA extraction from grapevine (*Vitis* spp.). *Vitis* 50, 7-10.
- Lipps H.P. und Harms M. (2004) Schwarzfäule - ein neues Problem im deutschen Weinbau. *Die Winzer-Zeitschrift* 19, 28-29.
- Lodhi M.A. und Reisch B.I. (1995) Nuclear-DNA content of *Vitis* species, cultivars and other genera of the Vitaceae. *Theoretical and Applied Genetics* 90, 11-16.
- Lodhi M.A., Weeden N.F. und Reisch B.I. (1997) Characterization of RAPD markers in *Vitis*. *Vitis* 36, 133-140.
- Luttrell E.S. (1946) Black Rot of Muscadine Grapes. *Phytopathology* 36, 905-924.
- Mackay T.F.C. (2001) Quantitative trait loci in Drosophila. *Nat. Rev. Genet.* 2, 11-20.
- Maixner M., Koch E., Berkelmann-Löhnertz B., Molitor D., Louis F., Harms M., Kortekamp A. und Porten M. (2009) Strategien zur Regulation der Schwarzfäule im ökologischen Weinbau In Bundesprogramm ökologischer Landbau.
- Maixner M., Schulze K., Loskill B., Hoffmann C. und Mohr H. (2007) Neue Rebschädigungen durch Klimawandel. *Die Winzer-Zeitschrift* 22, 28-29.
- Marguerit E., Boury C., Manicki A., Donnart M., Butterlin G., Nemorin A., Wiedemann-Merdinoglu S., Merdinoglu D., Ollat N. und Decroocq S. (2009) Genetic dissection of sex determinism, inflorescence morphology and downy mildew resistance in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* 118, 1261-1278.
- Martinez O. und Curnow R.N. (1992) Estimating the locations and the sizes of the effects of quantitative trait loci using flanking markers. *Theoretical and Applied Genetics* 85, 480-488.
- Martins W.S., Lucas D.C.S., Neves K.F.d.S. und Bertoli D.J. (2009) WebSat - A Web Software for MicroSatellite Marker Development. *Bioinformatics* 3, 282-283.

- Michel R.H., McGovern P.E. und Badler V.R. (1993) The 1st wine and beer. *Analytical Chemistry* 65, A408-A413.
- Molitor D. (2009) Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) an Weinreben. Forschungsanstalt Geisenheim, Fachgebiet Phytomedizin, Geisenheim, Germany. Dissertation.
- Moreira F.M., Madini A., Marino R., Zulini L., Stefanini M., Velasco R., Kozma P. und Grandó M.S. (2011) Genetic linkage maps of two interspecific grape crosses (*Vitis* spp.) used to localize quantitative trait loci for Downy Mildew resistance. *Tree Genetics & Genomes* 7, 153-167.
- Müller K., von Bassermann-Jordan F., Biermann W., Börner K., Dümmler A., Fahrnschon K., Fuess J., Fuhr H., von der Heide K. und Kaserer H. (1930) Weinbau-Lexikon für Winzer, Weinhändler, Küfer und Gastwirte. Ed. K. Müller. 93-95. Verlagsbuchhandlung Paul Parey, Berlin.
- Mullins M.G., Bouquet A. und Williams L.E.(1992) Biology of Horticultural Crops: Biology of the grapevine. Cambridge University Press, Cambridge, England , New York, USA. 229-239.
- Nguyen H. und Wu X. (2005) Molecular Marker Systems for Genetic Mapping. Genetic and Physical Mapping. In The Handbook of Plant Genome Mapping. Eds. K. Meksem und G. Kahl. 23-53. WILEY-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinsheim.
- OIV(2009) 2te Auflage der OIV Merkmalsliste für Rebsorten und *Vitis*-Arten. Organisation Internationale de la Vigne et du Vin, Organisation Intergouvernementale, Paris <http://www.oiv.int>.
- Rasmusson J.A. (1933) Contribution to the theory of quantitative character inheritance. *Hereditas* 18, 245-261.
- Reddick D. (1911) The black rot disease of grapes. *Cornell Univ. Agri. Exp. Sta. Bull.* 293, 298-364.
- Rex F., Fechter I., Hausmann L. und Töpfer R. (2011) Etablierung einer Methode zur Phänotypisierung der Schwarzfäule (*Guignardia bidwellii*) Resistenz in der Weinrebe (*Vitis* spec.). *Julius-Kühn-Archiv* 430, 54-58.
- Riaz S., Tenschler A.C., Ramming D.W. und Walker M.A. (2011) Using a limited mapping strategy to identify major QTLs for resistance to grapevine powdery mildew (*Erysiphe necator*) and their use in marker-assisted breeding. *Theoretical and Applied Genetics* 122, 1059-1073.
- Rozen S. und Skaletsky H.J. (1998) Primer3. . http://www-genome.wi.mit.edu/genome_software/other/primer3.html.

- Salmasso M., Faes G., Segala C., Stefanini M., Salakhutdinov L., Zyprian E., Toepfer R., Grando M.S. und Velasco R. (2004) Genome diversity and gene haplotypes in the grapevine (*Vitis vinifera* L.), as revealed by single nucleotide polymorphisms. *Molecular Breeding* 14, 385-395.
- Salzman R.A., Tikhonova I., Bordelon B.P., Hasegawa P.M. und Bressan R.A. (1998) Coordinate accumulation of antifungal proteins and hexoses constitutes a developmentally controlled defense response during fruit ripening in grape. *Plant Physiology* 117, 465-472.
- Sax K. (1923) The relation between chromosome number, morphological characters and rust resistance in segregates of partially sterile wheat hybrids. *Genetics*, 301-321
- Schäller G. (1966) Ergebnisse der Rebenunterlagenzüchtung mit *Vitis cinerea* Arnold. *Der Züchter* 35, 250-255.
- Schneider K. (2005) Mapping Populations and Principles of Genetic Mapping. In *The Handbook of Plant Genome Mapping*. Eds. K. Meksem und G. Kahl. 3-19. WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, Weinheim.
- Schoch C.L., Crous P.W., Groenewald J.Z., Boehm E.W.A., Burgess T.I., de Gruyter J., de Hoog G.S., Dixon L.J., Grube M., Gueidan C., Harada Y., Hatakeyama S., Hirayama K., Hosoya T., Huhndorf S.M., Hyde K.D., Jones E.B.G., Kohlmeyer J., Kruys A., Li Y.M., Lücking R., Lumbsch H.T., Marvanova L., Mbatchou J.S., McVay A.H., Miller A.N., Muggambi G.K., Muggia L., Nelsen M.P., Nelson P., Owensby C.A., Phillips A.J.L., Phongpaichit S., Pointing S.B., Pujade-Renaud V., Raja H.A., Plata E.R., Robbertse B., Ruibal C., Sakayaroj J., Sano T., Selbmann L., Shearer C.A., Shirouzu T., Slippers B., Suetrong S., Tanaka K., Volkmann-Kohlmeyer B., Wingfield M.J., Wood A.R., Woudenberg J.H.C., Yonezawa H., Zhang Y. und Spatafora J.W. (2009) A class-wide phylogenetic assessment of Dothideomycetes. *Studies in Mycology*, 1-15.
- Schwander F., Eibach R., Fechter I., Hausmann L., Zyprian E. und Töpfer R. (2012) *Rpv10*: a new locus from the Asian *Vitis* gene pool for pyramiding downy mildew resistance loci in grapevine. *Theoretical and Applied Genetics* 124, 163-176.
- Shaw B.D., Carroll G.C. und Hoch H.C. (2006) Generality of the prerequisite of conidium attachment to a hydrophobic substratum as a signal for germination among *Phyllosticta* species. *Mycologia* 98, 186-194.
- Shaw B.D. und Hoch H.C. (2000) Ca²⁺ regulation of *Phyllosticta ampellicida* pycnidiospore germination and appressorium formation. *Fungal Genetics and Biology* 31, 43-53.

- Shaw B.D., Kuo K.C. und Hoch H.C. (1998) Germination and appressorium development of *Phyllosticta ampellicida* pycnidiospores. *Mycologia* 90, 258-268.
- This P., Roux C., Parra P., Siret R., Bourse T., Adam A.F., Yvon M., Lacombe T., David J. und Boursiquot J.M. (2001) Characterization of genetic diversity in a population of wild grapes from Pic Saint Loup area and its relationship with the cultivated grapes. *Genet. Sel. Evol.* 33, 289-304.
- Thomas M.R. und Scott N.S. (1993) Microsatellite repeats in grapevine reveal DNA polymorphisms when analyzed as sequence-tagged sites (STSS). *Theoretical and Applied Genetics* 86, 985-990.
- Töpfer R., Hausmann L., Harst M., Maul E., Zyprian E. und Eibach R. (2011) New Horizons for Grapevine Breeding. In Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology. Eds. Hendryk Flachowsky und M.-V. Hanke. 79-100. Global Science Books, Isleworth, UK.
- Ullrich C.I., Kleespies R.G., Enders M. und Koch E. (2009) Biology of the black rot pathogen, *Guignardia bidwellii*, its development in susceptible leaves of grapevine *Vitis vinifera*. *Journal für Kulturpflanzen* 61, 82-90.
- Van Ooijen J.W. (1992) Accuracy of mapping quantitative trait loci in outcrossing species. *Theoretical and Applied Genetics* 84, 803-811.
- Velasco R., Zharkikh A., Troggio M., Cartwright D.A., Cestaro A., Pruss D., Pindo M., FitzGerald L.M., Vezzulli S., Reid J., Malacarne G., Iliev D., Coppola G., Wardell B., Micheletti D., Macalma T., Facci M., Mitchell J.T., Perazzolli M., Eldredge G., Gatto P., Oyzerski R., Moretto M., Gutin N., Stefanini M., Chen Y., Segala C., Davenport C., Demattè L., Mraz A., Battilana J., Stormo K., Costa F., Tao Q., Si-Ammour A., Harkins T., Lackey A., Perbost C., Taillon B., Stella A., Solovyyev V., Fawcett J.V., Sterck L., Vandepoele K., Grando S.M., Toppo S., Moser C., Lanchbury J., Bogden R., Skolnick M., Sgaramella V., Bhatnagar S.K., Fontana P., Gutin A., Van de Peer Y., Salamini F. und Viola R. (2007) A High Quality Draft Consensus Sequence of the Genome of a Heterozygous Grapevine Variety. PLoS ONE.
- Vezzulli S., Troggio M., Coppola G., Jermakow A., Cartwright D., Zharkikh A., Stefanini M., Grando M.S., Viola R., Adam-Blondon A.F., Thomas M., This P. und Velasco R. (2008) A reference integrated map for cultivated grapevine (*Vitis vinifera* L.) from three crosses, based on 283 SSR and 501 SNP-based markers. *Theoretical and Applied Genetics* 117, 499-511.
- Voorrips R.E. (2002) MapChart: Software for the graphical presentation of linkage maps and QTLs. *The Journal of Heredity* 93, 77-78.

- Vos P., Hogers R., Bleeker M., Reijans M., Vandeleee T., Hornes M., Frijters A., Pot J., Peleman J., Kuiper M. und Zabeau M. (1995) AFLP - A new technique for DNA-fingerprinting. . *Nucleic Acids Research* 23, 4407-4414.
- Welsh J. und McClelland M. (1990) Fingerprinting genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Research* 18, 7213-7218.
- Welter L., Grando M. und Zyprian E. (2011) Basics of Grapevine Genetic Analysis. In Genetics, Genomics and Breeding of Grapes. Eds. A.F. Adam-Blondon, J.M. Martinez-Zapater und C. Kole. 137-159. Science Publisher, New Hampshire.
- Welter L.J., Gokturk-Baydar N., Akkurt M., Maul E., Eibach R., Töpfer R. und Zyprian E.M. (2007) Genetic mapping and localization of quantitative trait loci affecting fungal disease resistance and leaf morphology in grapevine (*Vitis vinifera* L.). *Molecular Breeding* 20, 359-374.
- Williams J.G.K., Kubelik A.R., Livak K.J., Rafalski J.A. und Tingey S.V. (1990) DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Research* 18, 6531-6535.
- Xing T. (2007) Signal transduction pathways and disease resistant genes and their applications to fungal disease control. In Biotechnology and plant disease management. Eds. Z.K. Punja, S.H. Boer und H. de Sanfacon. 1-16.
- Zhang J.K., Hausmann L., Eibach R., Welter L.J., Töpfer R. und Zyprian E.M. (2009) A framework map from grapevine V3125 (*Vitis vinifera* 'Schiava grossa' x 'Riesling') x rootstock cultivar 'Börner' (*Vitis riparia* x *Vitis cinerea*) to localize genetic determinants of phylloxera root resistance. *Theoretical and Applied Genetics* 119, 1039-1051.

ANHANG

Anhang 1: Die Consensus-Karte der Chromosomen 4, 14 und 16

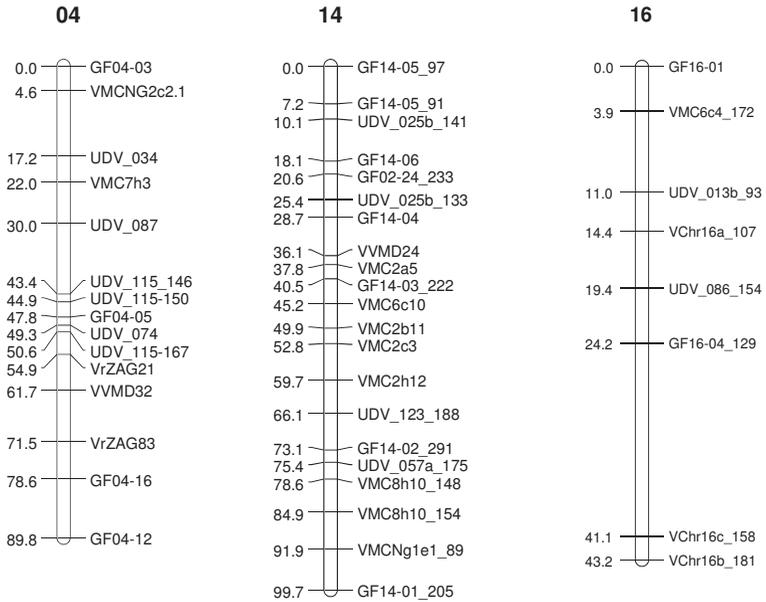


Abbildung 16: Die Kopplungsgruppen 4, 14 und 16 der genetischen Karte. Dargestellt ist die Consensus-Karte, wie sie in Zhang et al. (2009) veröffentlicht wurde und von Fechter et al. (in Vorbereitung) um neue SSR-Marker ergänzt wurde.

Anhang 2: Primerpaare

Tabelle 16: Die für die Feinkartierung verwendeten Primerpaare mit den jeweiligen Angaben zur Kopplungsgruppe (LG), dem Namen des Primers, seiner Sequenz sowie der Schmelztemperatur (Tm). Weiter ist das Motiv des Mikrosatelliten (SSR-Sequenz) mit seinen Wiederholungen in der Referenzsequenz PN40024 und das Vererbungsschema nach JoinMap innerhalb der Kreuzungspopulation V3125 x 'Börner' (VxB) angegeben.

LG	Name	Primer	Tm [°C]	SSR-	VxB
4	GF04-01f	TGGGTTGTGAAGGTGATGTTA	60,0	(TA)20	kein Produkt
	GF04-01r	TAGGGTTCTTCTGCCATTTGTT	60,3		
4	GF04-02f	AATTCAACACTCTCCTACCGTGA	60,0	(GA)21	kein Produkt
	GF04-02r	TACGGCTTCAATGGGTCTAAAT	59,9		
4	GF04-03f	CAAATTATCCCAAGAGGCTTCA	60,4	(GGCTT)7	<abxcd>
	GF04-03r	GTAATCTAACCAAGCAGCCACC	60,0		
4	GF04-04f	GTTGATTTGGGATTGGAGTTGT	60,1	(ATA)10	kein Produkt
	GF04-04r	TCCTTCAGGTTAGACCATGTGA	59,6		
4	GF04-05f	CTAGTGGATGTCCCAATTTTGC	60,7	(GT)15	<abxcd>
	GF04-05r	GCATAAAAGGCGAGTAATGGAC	60,0		
4	GF04-06f	CTAGTCGCGTTTGAGGGAATAC	60,1	(TGG)6	monomorph
	GF04-06r	ACCACCAGCCAGATACTCATTT	59,9		
4	GF04-07f	CTTCTTCTTGCCTTTTCAAC	58,2	(CA)9	<abxcd>
	GF04-07r	AATTTCTTTGGACACCACACC	58,8		
4	GF04-08f	CACAGATACAAGTGGGTGGCTA	60,1	(CT)11	<abxcd>
	GF04-08r	TGCTACCTCGAACCTATCAACA	59,8		
4	GF04-09f	GTCAATGCAATAACACTGCCAAG	60,6	(AT)27	monomorph
	GF04-09r	CTTTTGGGGAAGAAAACATCTG	60,0		
4	GF04-10f	CTGTTTAATCGGCCCTTCATTC	60,0	(AG)12	<efxeg>
	GF04-10r	TCTTTGTCCCTTGTGTTTGGTG	60,0		
4	GF04-11f	TCCAATCTAGGTCATGTGATGC	60,0	(TC)12	<abxcd>
	GF04-11r	TCCATGTCTCGTTCCCTGTTAGA	59,7		
4	GF04-12f	GTGGTCTTCATATCACCAATTCTTC	60,1	(ATTT)6	<efxeg>
	GF04-12r	TTCTTCATCGTTCTGTTGTTGG	60,1		
4	GF04-13f	CTCGCCATCTCTAGTAACACC	60,2	(CT)9	kein Produkt
	GF04-13r	TGGTTGTGCTAATTGGAAAAGTG	60,0		
4	GF04-14f	TCTTACCACAAAGAACTCGCTG	59,6	(TC)20	<lmxll>
	GF04-14r	CAAAACGTGGACAATATAGGCA	59,9		
4	GF04-15f	AGAAGGTGGGTAAAGTAGGGG	59,8	(GAG)8	<efxeg>
	GF04-15r	CGAAACTATCCTTATCAACGCC	60,0		
4	GF04-16f	CGGTGGGTGTATAGGTTTTGTA	58,8	(ATA)6	<abxcd>
	GF04-16r	GAATGCTAGAAGAGAGATTGTTGAG	58,0		
4	GF04-17f	CCCACAGAGAGTTTGAAGGACT	59,8	(AC)12	<abxcd>
	GF04-17r	CCCATTCCCATGTCTATCTTTT	59,2		
4	GF04-18f	GGAAGATTGATGTGGGTTGTTT	59,8	(CAC)6	<efxeg>
	GF04-18r	TACATTTGCATTCTGCTCCAGT	60,0		
4	GF04-19f	TTAGAAACCACGCTACACACCA	60,6	(TC)9	kein Produkt
	GF04-19r	ACTGAAAACATCAGCCTTGTGA	59,8		

LG	Name	Primer	Tm [°C]	SSR-	VxB
4	GF04-20f	CAGAATAATCAAGAAGAACCCCG	59,8	(GA)6	monomorph
	GF04-20r	TTCAAACCCACAGGTACATACAG	59,9		
4	GF04-21f	CATTAGGGTGGATTTGGTATGG	60,3	(GT)9	<abxcd>
	GF04-21r	TTAGGATGTTTATGGGCTTGCT	60,0		
4	GF04-22f	TGTCCATACTTTCATCAGCTCG	60,3	(AAG)12	<nnxnp>
	GF04-22r	TCATCTCCATCTCCACCTTCTT	60,1		
4	GF04-23f	ATCGTCCATCCATTGTCTAACC	60,1	(AAATA)6	kein Produkt
	GF04-23r	GTGGCTCACCTTTTCTTACACC	60,0		
4	GF04-24f	TATGTGTGCATAGACTGCAACC	58,7	(GA)6	kein Produkt
	GF04-24r	CGATCAAATCAAACCCACTAGA	59,1		
4	GF04-25f	GATCTTGAATGCTCACTGCAAC	59,9	(AAG)6	kein Produkt
	GF04-25r	GTTCTTGTGTGTGTGGGTTTGT	59,8		
4	GF04-26f	TCCACCCGATCTCTCATTCTAT	59,9	(TC)6	kein Produkt
	GF04-26r	TAAGCTCACAAGGAACCCCTAGC	59,9		
4	GF04-27f	CTCAAGTAAACCAAAGCTGCC	60,3	(TCC)6	<nnxnp>
	GF04-27r	GATGATGAGGAAGAGAAGTGGG	60,1		
4	GF04-28f	TCCAGAATAATGGGATCTGTGA	59,4	(TGAT)6	kein Produkt
	GF04-28r	ATAACACCCCTCTAAGCCCCCTA	60,2		
4	GF04-29f	GTGTTCTATGATGCTGGCAAAA	60,1	(GA)10	<abxcd>
	GF04-29r	GTATATGCTTCAGCTTGAGGGG	60,1		
4	GF04-30f	GGGAAGGGGAAGAAGTAAGAAA	59,9	(TC)18	kein Produkt
	GF04-30r	CTGGTCAAGTAAGGACCCAAAC	59,9		
4	GF04-31f	CTAGTCGCGTTGAGGGAATAC	60,1	(TGG)6	monomorph
	GF04-31r	ACCACGACCCAGATACTCATTT	59,9		
4	GF04-41f	TAGCTGGTTTCAGTGTTTGGAA	59,8	(AG)11	<abxcd>
	GF04-41r	TAGAGAGTGTGTGAGAAGGCGA	60,2		
14	GF14-07f	ATTCTTATCCACAACCCACCTG	60,1	(TAAA)7	<abxcd>
	GF14-07r	CCCCATAAACACCAGCTATTCT	59,4		
14	GF14-08f	CGACTTGACACTAAGACAGGCA	60,5	(TG)12	<nnxnp>
	GF14-08r	GCAAGCAAAGAATTACCCAAAC	60,0		
14	GF14-09f	AAGCTCGTGAAAGTAGGACGAC	60,0	(AAG)9	monomorph
	GF14-09r	CAAACGGTAAAGTGAAGTACCATC	59,0		
14	GF14-10f	TATGCCTCGATCCTCTACCTTC	59,7	(CTTCTC)6	kein Produkt
	GF14-10r	GAGAAAGCAGGGTCAAATGTC	60,1		
14	GF14-11f	ATAAACACCTTTTACGGGGTCA	59,6	(CA)10	<abxcd>
	GF14-11r	CCCTCTTTTACTCTCTTGTTG	59,2		
14	GF14-12f	GCAAATGATCTGCAAGGAAAG	61,1	(AG)19	<efxeg>
	GF14-12r	ACTTTAGAAACCATGCCACC	60,3		
14	GF14-13f	ATGGAAGTGAATCCCCTTGTC	60,2	(AG)14	<lmxll>
	GF14-13r	CACGAGTCAAAGTTGCCACAC	60,6		
14	GF14-14f	TCACGGAGAGAGTAGGAAGGAG	60,0	(CTG)6	<efxeg>
	GF14-14r	TGTGCTGTTGTTGTACTTGCTG	60,0		
14	GF14-15f	TGTTACTGATTTGCCTCCACAC	60,0	(CCCT)7	kein Produkt
	GF14-15r	CACACAAACAAAAGACCAGGAA	60,0		
14	GF14-16f	ACACAAATGGGTCTCCCTACAC	60,2	(ATGT)7	<abxcd>
	GF14-16r	AGTCTTCCAAACACCTGCGAT	61,1		

LG	Name	Primer	Tm [°C]	SSR-	VxB
14	GF14-17f	CCTGGCAATACACATCTCTTGA	60.1	(CA)8	monomorph
	GF14-17r	CACTGGTTTTCTTGCAGTTGTC	59.8		
14	GF14-18f	ACATTCCCTTTTGCCTGCTAT	59.9	(TTTC)6	monomorph
	GF14-18r	TCTGAACCAACACAATCCAAC	59.9		
14	GF14-19f	TTTGTCTTTTCCCCTCTGTTGT	60.0	(AG)8	<nnxnp>
	GF14-19r	GTGAAGTTGGGGTTGGAAGTAG	59.9		
14	GF14-20f	CATTGTAACCTCTTGATCGTGA	57.8	(TCA)10	<Imxll>
	GF14-20r	ACTTTCTCTAGGTTTTGGGCTT	57.7		
14	GF14-32f	TGGGTTTGTCTTCTGCTTTCTT	60.3	(TCT)7	Kein Produkt
	GF14-32r	CCCTCGTTTTACTCCCTCTACA	59.6		
14	GF14-33f	GCAGGAAGGAGAAAACAAGCTA	60.0	(TG)7	<abxcd>
	GF14-33r	ATAATCCCTCAATACCAGGCAC	59.2		
14	GF14-34f	AGGATGGAGTCAAAGAAGGGTT	60.3	(AG)13	<Imxll>
	GF14-34r	GAACGAAGGGTTGTCATTGTTT	60.3		
14	GF14-35f	ATGGAAGTGAATCCCCTTGTC	60.2	(AG)14	Kein Produkt
	GF14-35r	CACGAGTCAAAGTTGTCCACAC	60.6		
14	GF14-36f	AATAACCCTCTCAGCTTCCTCC	60.1	(CT)9	<Imxll>
	GF14-36r	TCTCTACCAAACCACAATTC	60.2		
14	GF14-37f	ATTATACACATCCATCGCAAGG	58.9	(GA)6	Kein Produkt
	GF14-37r	ATACTGCTAAAGAAGGGCTGGA	59.4		
14	GF14-38f	ATTATGGCCGAGGAGGAATAAG	60.6	(ATT)7	Kein Produkt
	GF14-38r	CAATCCACAACGCTAACAACG	60.5		
14	GF14-39f	ATCTTGAGACTTATGCCTTGCC	59.8	(TTA)7	<abxcd>
	GF14-39r	GGAACAAAGTGCCTATGGA AAA	60.3		
14	GF14-40f	TTGGTGCCTCTAGCTTTACACA	59.9	(TTC)8	<Imxll>
	GF14-40r	TGGTTGGATGACCTTACTGATG	59.9		
14	GF14-41f	CGCTTGCAGTATTCTCTCTTT	60.2	(CA)8	<Imxll>
	GF14-41r	CAACCTTCTCCTCATGTCTTCC	60.2		
14	GF14-42f	TGGAGTAGCATGAGAACCCAT	60.3	(AAT)7	<nnxnp>
	GF14-42r	AGAAGTGCAAACCTACCAAGCA	60.2		
14	GF14-43f	CCTACACGCTTTTGTGAATGAA	60.2	(GGC)6	Kein Produkt
	GF14-43r	TTAATTTCTCAGTCCCTCTGGC	59.7		
14	GF14-44f	AAGCCAAAATGACACTGAACT	60.0	(AG)8	<nnxnp>
	GF14-44r	CACCACCAAGAATACATCCTCC	60.6		
14	GF14-45f	AACCATGTTCTGTTGCTTTGTG	60.1	(CT)8	Kein Produkt
	GF14-45r	TGGGTTTTCTCTGAATCCATGT	60.7		
14	GF14-46f	GTTGTAGGGGACACATAAAGGC	59.8	(TC)12	<efxeg>
	GF14-46r	TCTCTCTCACATCACTCTCCA	59.9		
14	GF14-47f	GCCCCACCAATAGGAATAGAT	60.4	(TC)8	Kein Produkt
	GF14-47r	CCAAATCCATAACCATCAAACC	60.3		
14	GF14-48f	TGCTGTAGGGTAGAGTGATGGA	59.8	(CA)16	<Imxll>
	GF14-48r	TAGGCATAGTGGGAACAAAAGG	60.4		
16	GF16-11f	TAGGCATAGTGGGAACAAAAGG	59.9	(AATAA)9	Kein Produkt
	GF16-11r	TATATCTTCAGCCTTCCCCAAA	59.5		
16	GF16-12f	TGTGTGGCTTGATGGATTCT	60.1	(ATAC)8	<nnxnp>
	GF16-12r	ACAGAGAGGAGGAGACACAAGC	60.2		

LG	Name	Primer	Tm [°C]	SSR-	VxB
16	GF16-13f	ATTGTAATTTGCTCACGATCCC	60.0	(ATT)10	Kein Produkt
	GF16-13r	AACACTTGCATGGAGACAACC	60.2		
16	GF16-14f	GCTGGATTCAACATGGGTCTAT	60.5	(CATA)7	<efxeg>
	GF16-14r	CTCTCTTCATGGATTGCGGAT	60.0		
16	GF16-15f	CATTTCCAAGTTGTAGCCCTC	60.9	(AAT)6	<abxcd>
	GF16-15r	TTACATGCCAAAGATGATGACG	59.9		
16	GF16-16f	ACGTGTCCCACTCCTACATT	60.1	(GCCCC)6	Kein Produkt
	GF16-16r	GGTCTACAGTGAGGTACAGGGC	60.3		
16	GF16-17f	GGATCAGAATTAGGAATGGCAA	59.3	(TTA)6	Kein Produkt
	GF16-17r	TGATGCACTCCTAAATGAGAGG	59.9		
16	GF16-18f	ATACGTCCGTGATGCTGTGG	59.0	(CTT)13	<nnxnp>
	GF16-18r	GAGAAACAGAGAGAATTGCACCT	59.7		
16	GF16-19f	TATGCTTATGTGGATTGATGGG	59.9	(AGA)6	Kein Produkt
	GF16-19r	TAAATGCACACTGCTCCTGTCT	59.9		
16	GF16-20f	GGCACTTCTTCTCCACAAC	59.9	(AAAG)6	Kein Produkt
	GF16-20r	GAAGGCAGAGTAGAGGAAACCA	60.1		
16	GF16-21f	GACAGAGATGGAAGGGTAAAG	60.2	(ATC)6	Kein Produkt
	GF16-21r	TCGAAACGATCAAAGGTCCTTCT	60.2		
16	GF16-22f	TTTGCCTTCTCCATTACA	60.1	(TTC)8	<efxeg>
	GF16-22r	TACCAAAATACCCAAAACCTCG	60.4		
16	GF16-23f	CCAGTGAGTCGAAGAAGAAAGG	59.9	(GAG)9	<nnxnp>
	GF16-23r	CAGGTGTTTTGCTCCTTTTCT	58.9		
16	GF16-24f	GCTCATCTCATTCTCCTTT	59.9	(GAT)6	Kein Produkt
	GF16-24r	CAAAATGGAGAGCAGAGAGGTT	59.9		
16	GF16-25f	TCGAATCAATACGCAACATAC	57.4	(TAT)8	<abxcd>
	GF16-25r	AACATGACACCACGTAACACA	57.8		
16	GF16-26f	TTTTGAGTATCGGGTCTTGC	59.9	(GAA)7	<abxcd>
	GF16-26r	GAAAAGGAGATATGATGCTGGG	60.0		
16	GF16-27f	AGTTTCAGATGCAGAGGGAGAG	60.3	(AAAG)7	Kein Produkt
	GF16-27r	GCAGCCAGGAGACTTATTATGC	59.8		
16	GF16-28f	GTCATTCACTACCATAGGTTGGC	60.8	(TTC)7	<abxcd>
	GF16-28r	TTGACGAGTTCCCTTAATCCCA	60.0		
16	GF16-29f	CTGATCTGGTTGCCCTTAAAC	60.5	(TCT)9	Kein Produkt
	GF16-29r	ATTC AACACACCAAGGGATAA	60.1		
16	GF16-30f	AGAGGAAGAAGAAGAAGAGAGC	58.4	(ATA)14	Kein Produkt
	GF16-30r	GACTTCGGATTCTCTATGGAG	59.0		
16	GF16-31f	CATTTGTGGCATCTGAACCTTA	59.9	(TG)14	Kein Produkt
	GF16-31r	AATGTGTCATGCAGAGGAATTG	60.0		
16	GF16-32f	TGAAGATTGATGGGTGTTCTTG	59.9	(TC)7	Kein Produkt
	GF16-32r	TGCAGAATTGATTGGAGAGAGA	59.9		
16	GF16-33f	TGCTTATGGGTGCCTTATCAAT	60.7	(TC)8	Kein Produkt
	GF16-33r	GGAGGTTCTAGGTTCAAGTTCCA	60.9		
16	GF16-34f	CTATACCAATCCCAACATTTG	60.3	(AGC)7	Kein Produkt
	GF16-34r	GATAAAGAACAAGAACGGGGTG	59.9		
16	GF16-35f	GATCGTGCAAAACAATCCAGTA	60.0	(AG)6	Kein Produkt
	GF16-35r	GAACGACTGAACATGCAGAAAG	59.9		

LG	Name	Primer	Tm [°C]	SSR-	VxB
16	GF16-36f	GGAAGGAAGCAAACATCAAAAG	60.1	(AG)6	Kein Produkt
	GF16-36r	CTCTCCTCAAATGGCACTCTCT	60.0		
16	GF16-37f	GAAGATGGGTTGATTTTGTGG	59.3	(GA)7	Kein Produkt
	GF16-37r	ATAGCTGTTGGGGTTCAATTCT	59.0		
16	GF16-38f	GTGCATTGGCTTTGAACAATA	60.2	(CT)8	Kein Produkt
	GF16-38r	CCTCCATTACCAAAAATCACAT	60.9		
16	GF16-39f	GAAGGAAGAGGTGTGTATTCCG	59.9	(GA)6	Kein Produkt
	GF16-39r	GACACTACATGAATGAGAATCAAGG	59.1		
16	GF16-40f	ACTTCAACTCAGCCTCATCCTC	59.9	(AG)13	Kein Produkt
	GF16-40r	ATGGATATGGATACGGATACGG	59.8		
16	GF16-41f	GCACAATCTCTTCAAATAGGAGC	60.6	(CTT)11	Kein Produkt
	GF16-41r	TGCCTCTTGGTGCTTATCGTAT	60.9		
16	GF16-42f	ACCATGACACTTGGATGAACAG	59.9	(CT)8	Kein Produkt
	GF16-42r	CCATGACCCTTTGATCTACCTC	59.8		

Anhang 3: Zusammenfassung aller QTL-Ergebnisse

QTL-Analyse mit der Methode Intervall Mapping vor der Feinkartierung

Tabelle 17: Übersicht über die Ergebnisse der QTL-Analysen. Angegeben sind die jeweiligen Versuche, das Bonitursystem (z.B. Anzahl der befallenen Blätter, Vorhandensein von Pyknidien, die Befallsstärke und das 5-Klassensystem), sowie die Chromosomen, auf denen QTL detektiert wurden. Für jeden QTL wurden der maximale LOD-Wert, die chromosomen-spezifische Signifikanzgrenze (SG), der korrelierende Marker nach KW mit $P = 0,01$ und das Konfidenzintervall (LOD-1) angegeben. Fehlende Werte bedeuten, dass die Signifikanzgrenze auf dem Chromosom nicht überschritten wurden, andere Werte wie eine signifikante Korrelation nach KW jedoch auf einen QTL hindeuten.

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenz-intervall
2010-GF-01	4 Klassen	10	2,8	2,8	13,9	VMC3e11.2	34,76-37,82
		16	-	-	-	VCHR16c_158	-
	5 Klassen	10	4,50	2,9	11,2	VMC3e11.2	34,7-37,32
		16	3,22	2,5	8,2	VCHR16c_158	0-10,09
	Pyknidien	10	5,85	2,9	12	VMC3e11.2	34,75-37,32
		14	-	-	-	VMC8h10_154	-
		17	5,2	2,9	12	UDV-92	70,79-19,74
	06.2010	7	3,11	2,9	7,9	UDV-28	44,1-54,97
			12	3,58	2,7	9,0	VMC5c6
		14	3,83	2,8	9,6	GF14-05_91	89,62-99,68
	08.2010	10	4,28	2,8	10,7	VMC3e11.2	33,70-41,25
		16	2,87	2,5	7,2	VCHR16c_158	0-18,92
	Zeit	5	4,14	3,1	10,3	UDV-64_116	5,83-11,29
		10	4,47	2,7	11,1	VMC3e11.2	33,75-37,32
		16	2,3	2,5	-	VCHR16c_158	0-7,1
	3 Klassen	9	3,05	2,8	7,8	VMC2e11	5-12,3
			10	5,66	2,7	13,9	VMC3e11.2
17		3,51	2,9	8,9	VMC3e11.1	9,79-20,74	
2 Klassen	10	5,13	2,8	12,7	VMC3e11.2	34,76-37,32	
		16	-	-	-	VCHR16c_158	-
	17	3,22	2,7	8,2	UDV-92	8,79-17,74	
2009-KR-02	MW	1	3,04	2,9	10,4	GF01-04	38,81-45,58
		4	3,24	2,8	11,0	VMCNG2c2.1	78,51-89,75
2010-KR-03	Max MW	4	4,67	2,9	12,7	GF04-03	71,76-89,76
		12	-	-	-	GF12-08	-
		13	-	-	-	VMC2c7_144	-
		14	2,8	3,0	9,0	GF14-04	64,9-79,25
		16	-	-	-	GF16-04_129	-

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
		19	-	-	-	GF19-07	-
	MW	4	4,61	2,9	12,5	GF04-03	71,76-89,76
		6	2,21	2,7	6,2	-	45,16-69,28
		12	2,2	2,9	-	GF12-08	-
		14	2,8	2,9	8,7	GF14-04	64,9-79,25
		16	-	-	-	GF16-04_129	-
		19	3,1	2,9	6,9	GF19-07	1-5,14
	Anzahl	2	3,09	3,0	8,6	-	47,47-68,67
		4	4,15	3,0	11,3	GF04-03	70,76-89,75
		12	-	-	-	GF12-08	-
		13	-	-	-	VMC2c7_144	-
		14	2,8	2,9	7,9	GF14-04	66,95-74,25
		16	-	-	-	GF16-04_129	-
		19	-	-	-	GF19-07	-
	Zeit	4	4,17	2,9	11,4	GF04-03	70,76-89,76
		13	-	-	-	VMC2c7_144	-
		14	2,2	3,0	7,6	GF14-04	67,95-75,05
		19	4,08	2,9	11,2	VChr19a	2,49-16,65
	Pyknidien	4	4,38	2,9	12,1	GF04-03	70,76-85,19
		14	2,3	2,9	-	GF14-04	-
	Läsionen	4	4,44	2,9	12,2	GF04-03	72,51-89,70
		13	-	-	-	VMC2c7_144	-
		14	3,78	2,9	8,3	GF14-04	64,31-79,05
		16	-	-	-	GF16-04_129	-
		19	-	-	-	GF19-07	-
	4 Klassen	4	5,34	3,0	14,5	GF04-03	72,51-89,76
		12	-	-	-	GF12-08	-
		13	-	-	-	VMC2c7_144	-
		14	2,8	3,1	-	GF14-04	65,95-75,05
		16	-	-	-	GF16-04_129	-
		19	2,81	2,9	8,0	GF19-07	0-16,65
	5 Klassen MW	4	4,56	2,9	12,5	GF04-03	73,51-89,76
		12	3,56	2,8	9,9	GF12-08	0-9,14
		13	2,8	2,9	-	VMC2c7_144	-
		14	2,5	2,9	8,1	GF14-04	64,31-75,05
		16	-	-	-	VCHR16a_107	-
		19	3,38	2,9	9,4	GF19-07	2,49-16,65
	2 Klassen	4	4,79	3,1	13,0	GF04-03	74,51-89,75
		12	3,19	2,9	8,8	GF12-08	0-9,14
		13	2,45	3,0	-	VMC2c7_144	-
		14	2,8	3,0	8,6	GF14-04	64,9-75,05
		16	2,8	2,5	8,0	GF16-04_129	5,1-23,76

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
2010-KR-04	Max	7	-	-	-	GF07-14_174	-
		11	3,25	2,9	8,7	-	-
		14	2,87	2,9	7,7	GF14-04	41,89-73,25
		15	2,31	2,5	6,7	GF15-02	7,74-20,9
	MW	16	2,8	2,5	8,6	VCHR16c_158	0-21,93
		6	-	-	-	GF06-02_341	-
		7	-	-	-	GF07-14_174	-
		11	2,93	2,9	9,5	-	5,87-43,68
	Anzahl	14	3,76	2,9	9,99	GF14-04	41,89-63,5
		15	3,24	2,8	9,2	GF15-04	7,74-20,57
		16	2,2	2,6	8,1	VCHR16c_158	0-22,93
		6	2,4	2,7	-	GF06-02_341	-
	Zeit	7	-	-	-	GF07-14_174	-
		11	2,80	2,8	6,5	-	48,62-62,67
		14	2,99	2,8	6,6	GF14-04	54,46-79,05
		16	3,99	2,6	10,9	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-17,1
	Pyknidien	6	-	-	-	GF06-02_341	-
		7	-	-	-	GF07-09_359	-
		14	3,1	3,1	-	GF14-04	-
		15	3,00	2,6	7,9	GF15-04	7,74-20,57
	Läsionen	16	4,08	2,6	11,1	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-15,1
		6	-	-	-	GF06-02_341	-
		7	-	-	-	GF07-14_174	-
		14	2,2	3,0	8,5	GF14-04	-
	4 Klassen Max	15	2,80	2,7	8,0	GF15-02	0-20,57
		16	3,16	2,7	-	VCHR16c_158	0-20,93
		6	-	-	-	GF06-02_341	-
		7	-	-	-	GF07-14_174	-
	4 Klassen MW	14	3,06	3,0	6,6	GF14-04	41,89-76,05
		15	3,73	2,6	10,8	GF15-04	3-20,58
		16	3,52	2,5	11,1	VCHR16c_158	0-14,1
		6	-	-	-	GF06-02_341	-
		7	-	-	-	GF07-14_174	-
		14	2,5	3,0	-	GF14-04	-
		15	3,09	2,5	8,5	GF15-04	1-20,57

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
		16	3,71	2,5	10,6	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-18,1
	5 Klassen Max	14	3,43	2,8	6,8	GF14-04	41,89-75,05
		15	4,08	2,6	11,1	GF15-04	7,74-19,57
		16	3,76	2,6	11,2	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-15,1
	5 Klassen MW	14	2,5	3,0	-	GF14-04	-
		15	3,20	2,6	8,7	GF15-04	0-20,75
		16	3,56	2,5	10,1	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-17,1
	2 Klassen	6	-	-	-	GF06-02_341	-
		7	-	-	-	GF07-14_174	-
		14	3,85	3,1	10,1	GF14-04	42,89-75,05
		15	4,27	2,6	12,2	GF15-02	0-19,57
		16	3,37	2,5	10,8	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-19,93
2010-KR-05	Max	14	2,52	2,9	7,4	GF14-04	63,5-88,62
		16	7,15	2,6	19,6	VCHR16b_181; VCHR16c_158	3,01-18,1
	MW	2	2,18	-	6,2	VVMD34_240	9,6-31,62
		14	2,90	2,9	7,7	GF14-04	54,49-79,05
		16	5,85	2,6	15,7	VCHR16b_181	2,1-19,93
	Anzahl	6	2,5	2,8	-	GF06-08	-
		14	3,19	2,9	8,8	GF14-04	53,49-76,05
		16	4,34	2,4	12,3	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-17,1
	Zeit	2	-	-	-	VVMD34_240	-
		6	3,56	2,8	9,9	VMC2f10	22,87-31,94
		13	2,6	2,9	-	GF13-3a	-
	Pyknidien	8	3,37	3,0	9,4	GF08-09	37,89-44,63
		16	4,22	2,4	11,6	VCHR16b_181	0-20,98
	Läsionen	2	2,8	2,9	-	VVMD34_240	-
		13	2,8	3,0	-	GF13-13	-
		16	2,46	2,5	-	VCHR16b_181	-
	4 Klassen Max	2	-	-	-	GF02-14_268	-
		14	2,80	2,9	-	GF14-04	-
		16	4,00	2,5	11,1	VCHR16b_181	0-20,93
	4 Klassen MW	2	-	-	-	GF02-14_268	-
		9	2,70	2,8	-	GF09-16	-
		13	2,30	3,0	-	VMC2c7_144	-
		16	3,76	2,6	10,4	VCHR16b_181	0-20,93
	5 Klassen Max	2	-	-	-	GF02-14_268	-

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
		13	3,10	2,9	8,6	GF13-1	32,75-42,41
		14	-	-	-	GF14-04	-
		16	4,14	2,6	11,3	VCHR16b_181	0-18,93
	5 Klassen MW	2	-	-	-	GF02-14_268	-
		8	3,35	2,8	9,2	GF08-09	34,89-46,01
		13	2,3	3,0	-	GF13-13	-
		14	2,95	2,9	8,2	GF14-04	55,15-85,62
		16	4,11	2,5	11,2	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-18,1
	2 Klassen	6	2,93	2,8	8,1	VMC2f10	21,87-38,98
		13	3,0	3,0	-	VMCNG4e10.1	-
		16	3,50	2,6	9,7	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-16,1
2011-KR-06	Max	3	-	-	-	VMC1a5	-
		14	1,80	3,0	-	GF14-04	-
		16	2,20	2,5	-	VCHR16c_158	-
	MW	3	2,54	2,8	6,4	VMC1a5	22,02-26,73
		16	2,40	2,6	-	VCHR16c_158	-
	Anzahl	3	4,12	2,8	9,9	UDV-022	24,02-36,55
		13	2,44	2,8	6,0	GF13-13	34,38-51,17
		14	4,39	3,0	10,5	VMC2b11	32,57-54,46
	Zeit	9	2,73	2,7	7,3	VCHR9a_110	19,38-49,18
		13	2,99	3,0	8,0	UDV-124	34,38-44,41
		14	4,11	3,0	10,8	VMC2b11	31,56-47,74
		15	3,77	2,6	9,9	GF15-10_206	0-8,74
	Pyknidien	3	2,96	2,7	7,8	VMC1a5	23,02-38,37
		14	2,50	2,9	-	VMC2a5	-
		15	2,35	2,35	6,2	GF15-10_206	0-28,31
	Läsionen	3	2,60	2,8	6,9	UDV-022	23,02-41,43
		13	2,50	3,0	-	VMC2c7_144	-
		14	4,64	2,9	11,9	VMC1a5	32,57-54,46
		15	3,16	2,6	8,3	GF15-10_206	0-11,74
	4 Klassen MW	3	3,29	2,9	8,6	VMC1a5	23,02-36,55
		14	4,12	2,9	10,7	VMC2b11	32,57-54,46
		15	3,16	2,5	8,3	GF15-10_206	0-11,74
	5 Klassen MW	3	3,40	2,8	8,9	VMC1a5	11,35-36,55
		14	4,01	2,9	10,4	VMC2b11	54,46-33,57
		15	2,89	2,5	7,6	GF15-10_206	0-18,17
	4 Klassen Max	3	2,85	2,8	7,5	VMC1a5	22,02-35,9
		14	2,8	3,0	-	VMC6c10	-
		15	2,14	2,4	5,7	GF15-10_206	0-21,9
		16	2,1	2,6	-	VCHR16c_158	-

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
2011-KR-07	5 Klassen Max	15	3,70	2,6	9,6	GF15-10_206	0-27,76
	2 Klassen	3	3,40	2,9	8,3	VMC1a5	30,92-40,37
		13	3,75	2,9	6,9	VMC2c7_144	18,87-51,16
	Max	5	3,10	3,0	-	GF05-04	-
		8	-	-	-	VMC5h2_196	-
		13	2,60	2,9	-	VMC2c7_151	-
		14	4,82	3,1	11,4	GF14-04	64,31-76,05
		15	2,99	2,5	7,2	GF15-10_206	0-31,89
	MW	5	3,59	3,0	8,6	GF05-04	9,07-30,74
		8	-	-	-	VMC5h2_196	-
		13	2,46	2,8	6,0	VMC2c7_151	7,46-22,22
		14	4,89	2,8	11,5	GF14-04	66,95-78,05
	Anzahl	13	3,1	3,1	-	VMC2c7_151	-
		14	4,89	3,1	3,1	GF14-04	66,95-78,05
		15	2,60	2,7	-	GF15-10_206	-
	Zeit	8	2,6	2,9	-	VMC5h2_196	-
		14	3,2	3,2	-	GF14-04	-
	Pyknidien	5	2,80	3,0	-	VMC9b5	-
		8	2,70	2,9	-	VMC5h2_196	-
		13	2,80	3,0	-	VMC2c7_151	-
		14	4,62	2,9	10,9	GF14-04	65,95-79,05
		15	2,60	2,6	-	GF15-10_206	-
	Läsionen	5	2,80	3,1	-	VMC9b5	-
		13	2,91	2,9	7,0	GF13-01	2-21,22
		14	5,43	2,8	12,4	GF14-04	66,95-79,05
	4 Klassen MW	5	2,80	3,0	-	GF05-04	-
		13	3,47	3,0	9,0	GF13-01	7-20,22
		14	5,98	2,9	15,0	GF14-04	65,95-79,05
		15	2,20	2,6	-	GF15-10_206	-
	5 Klassen MW	5	2,20	3,0	-	VMC16d4	-
	8	2,80	3,1	-	VMC5h2_196	-	
	13	3,05	3,0	8,0	GF13-01	7,46-21,22	
	14	5,76	3,0	14,8	GF14-04	66,95-79,05	
	15	-	-	-	GF15-10_206	-	
4 Klassen Max	5	3,65	3,65	9,5	GF05-04	18,24-24,22	
	8	3,10	3,0	-	VMC5h2_196	-	
	13	3,10	3,1	-	GF13-01	-	
	14	6,02	3,0	15,1	GF14-04	65,95-77,01	
	15	-	-	-	GF15-10_206	-	
5 Klassen Max	5	2,80	3,0	-	GF05-04	-	
	8	3,10	3,0	-	VMC5h2_196	-	
	13	-	-	-	GF13-01	-	

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenz-intervall
		14	5,55	3,0	14,0	GF14-04	65,95-78,05
	2 Klassen	5	2,70	2,9	-	VMC16d4	-
		8	3,91	3,1	10,1	VMC5h2_196	59,71-79,01
		14	2,2	2,9	-	GF14-05_91	-
2011-KR-08	Max	13	2,30	2,8	-	GF13-01	-
		14	4,65	3,2	12,4	GF14-06	71,25-98,68
		16	3,57	2,6	9,7	VCHR16c_158	0-2,1
		17	2,52	2,8	7,1	VVIN73_256	0-36,3
	MW	5	3,37	3,0	9,1	GF05-16	28,1-35,74
		13	2,70	3,0	-	GF13-01	-
		14	4,90	2,9	13,0	GF14-05_97	71,25-94,68
		16	2,20	2,5	-	VCHR16c_158	-
		17	2,70	2,8	-	VVIN73_256	-
	Anzahl	14	7,40	3,0	19,0	GF14-04	71,25-81,56
		16	2,83	2,6	7,7	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-17,1
		17	4,08	2,7	11,0	VVIN73_256	21,77-34,30
	Zeit	14	7,15	2,8	18,4	GF14-06	73,25-86,58
		17	3,58	2,7	9,7	VCHR16b_181; VCHR16c_158	21,77-36,30
	Pyknidien	14	7,18	2,9	18,5	GF14-06	73,25-86,58
		17	3,45	2,8	9,4	VVIN73_256	23,77-35,30
	Läsionen	14	5,29	3,0	14,0	GF14-06	72,25-87,58
		17	3,24	2,8	8,8	VVIN73_256	10,79-36,30
	4 Klassen MW	7	2,80	3,1	-	GF07-14_174	-
		14	6,89	2,9	17,8	GF14-06	72,25-89,62
		16	2,20	2,4	-	VCHR16c_158	-
		17	4,48	2,7	12,0	VVIN73_256	24,77-36,71
	5 Klassen MW	14	7,62	3,0	19,5	GF14-06	73,25-93,68
		16	2,70	2,4	7,4	VCHR16c_158	0-14,1
		17	3,83	2,9	10,3	VVIN73_256	23,77-35,30
	4 Klassen Max	14	4,69	3,0	15,5	VMC2b11	67,95-99,68
		15	2,97	2,5	8,1	GF15-06	24,4-32,63
		16	2,66	2,5	7,3	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-22,93
		17	3,79	2,8	8,7	VVIN73_256	22,77-34,3
	5 Klassen Max	14	7,53	2,9	19,3	GF14-06	74,25-99,68
		16	3,12	2,5	8,2	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-14,1
		17	2,98	2,8	8,0	VVIN73_256	22,77-35,3
	2 Klassen	14	3,01	3,01	8,2	GF14-05_97	66,95-99,68
Gesamt	Anzahl	14	4,91	2,9	11,5	GF14-04	74,25-81,56

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
	Pyknidien	8	2,73	3,0	6,6	VMCNg2e2_140	37,89-79,1
		12	-	-	-	GF12-03	-
		13	4,08	3,0	9,7	GF13-01	35,38-41,41
		14	4,65	3,1	10,9	GF14-04	64,31-73,25
		16	4,72	2,4	11,5	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-16,1
	4 Klassen	8	-	-	-	UDV026	-
		12	-	-	-	VMC5c6	-
		13	3,84	2,9	9,1	GF13-01	16,76-27,79
		14	5,55	2,9	12,9	GF14-04	65-31-77,01
		16	4,45	2,5	10,5	VCHR16c_158	0-18,1
	5 Klassen MW	12	3,0	2,8	-	VMC5c6	-
		13	3,2	3,0	-	GF13-01	-
		14	6,26	3,0	14,4	GF14-04	64,31-78,05
		16	4,66	2,4	10,9	VCHR16c_158	0-17,1
	2 Klassen	13	-	2,9	-	RDV1	-
		14	4,15	3,1	9,9	GF14-04	55,15-79,25
		16	4,24	2,5	10,1	VCHR16c_158	0-15,1
Mo05	MW	4	2,66	2,9	6,9	GF04-03	69,76-89,76
		12	2,7	3,0	-	VMC5c6	-
		14	2,2	3,0	-	GF14-04	-
		15	2,74	2,6	7,1	GF15-02	7,74-21,9
		16	3,13	2,5	8,1	VCHR16c_158	2-22,93
Mo05+GF10	Max	3	2,80	2,8	-	VMC1a5	-
		14	3,89	2,9	9,8	VMC2a5	52,49-63,5
		16	6,47	2,6	15,8	VCHR16b_181; VCHR16c_158	1-16,1
	MW	14	4,47	3,0	11,2	GF14-04	53,49-63,5
		16	5,12	2,5	12,7	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-16,1
	Anzahl	3	3,19	2,9	8,1	VMC1a5	23,02-30,73
		14	5,06	2,9	12,5	VMC6c10	32,57-46,89
		16	3,49	2,5	8,8	VCHR16c_158	0-17,1
	Zeit	keine QTL					
	Pyknidien	13	3,52	2,9	9,0	VCHR13b	35,38-42,41
		14	3,63	3,0	9,3	VMC2a5	51,51-63,5
		16	4,44	2,5	11,3	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-16,1
	Läsionen	13	3,42	3,1	8,8	UDV-124	16,76-27,79
		14	5,09	3,0	12,8	GF14-04	52,51-66,95
		16	2,91	2,7	8,3	VCHR16c_158	0-21,93

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall	
	4 Klassen Max	13	3,12	3,0	8,1	VCHR13b	16,76-25,6	
		14	5,06	3,0	12,7	VMC6c10	50,51-63,5	
		16	5,52	2,5	13,8	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-15,1	
	4 Klassen MW	13	2,95	2,9	7,6	VCHR13b	16,76-27,79	
		14	4,53	3,0	11,5	GF14-04	60,51-63,5	
		16	4,10	2,7	10,4	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-18,1	
	5 Klassen Max	13	2,90	2,8	-	VCHR13b	-	
		14	5,58	2,9	14,0	GF14-04	50,51-63,5	
		16	3,65	2,8	9,4	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-2,1	
	5 Klassen MW	3	2,40	2,8	-	VMC1a5	-	
		14	4,87	3,0	12,3	VMC2a5	50,51-63,5	
		16	3,68	2,5	9,4	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-18,1	
	2 Klassen	14	4,16	3,0	10,4	GF14-04	34,57-67,95	
		16	4,83	2,5	12,0	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-15,1	
	GF10	Max	5	2,6	3,0	-	GF05-04	-
			12	3,36	2,7	8,1	VMC4f3.1	36,85-50,74
13			3,52	3,0	8,5	GF13-01	7,46-19,87	
14			3,87	2,5	6,0	GF14-04	65,95-93,68	
16			2,46	3,0	9,2	VCHR16b_181; VCHR16c_158	-	
MW		5	2,8	2,9	-	GF05-04	-	
		12	3,27	3,1	7,9	VMC4f3.1	36,85-50,74	
		13	3,59	3,0	8,6	GF13-01	8,46-26,79	
		14	4,14	2,9	9,8	GF14-05_91	92,68-64,9	
Anzahl		13	3,18	3,0	7,7	GF13-01	0-21,37	
		14	4,89	2,9	11,5	GF14-04	67,95-78,05	
		15	2,6	2,6	-	GF15-10_206	-	
Zeit		13	-	-	-	GF13-01	-	
		14	4,48	3,0	10,6	GF14-06	87,58-70,25	
		17	3,09	2,6	7,5	-	14,81-24,77	
Pyknidien		5	3,05	2,9	7,3	GF05-04	26,09-30,74	
	12	3,2	3,0	-	UDV-024	-		
	13	2,8	2,8	-	VMC2c7_151	-		
	14	4,79	3,1	11,3	GF14-06	67,95-79,56		
Läsionen MW	5	2,8	3,1	-	GF05-04	-		
	12	3,17	2,8	7,6	UDV_024	38,85-48,74		
	14	4,64	2,8	11,0	GF14-04	68,95-82,62		

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
4 Klassen MW		5	2,8	2,8	-	GF05-04	-
		13	3,54	2,8	9,1	GF13-01	10,22-26,79
		14	6,35	3,0	15,7	GF14-04	64,31-82,62
5 Klassen MW		5	2,8	3,0	-	GF05-04	-
		13	3,19	3,1	8,2	GF13-01	10,22-26,79
		14	6,51	2,9	16,3	GF14-06	70,12-14,06
4 Klassen Max		5	3,34	3,0	8,6	GF05-04	26,09-36,95
		13	3,47	3,0	8,9	GF13-01	10,22-26,79
		14	5,59	3,0	14,0	GF14-04	65,95-79,05
5 Klassen Max		5	2,7	3,2	-	GF05-04	-
		13	3,1	3,1	-	GF13-01	-
		14	5,80	2,9	14,5	GF14-04	64,9-81,56
2 Klassen		12	2,20	2,9	-	VMC4f3.1	-
		13	2,00	2,9	-	GF13-01	-
		14	2,20	2,9	-	GF14-05_91	-
Gesamt KR	Max	7	-	-	-	VCHR7b	-
		8	-	-	-	VMCNG2b6	-
		12	-	-	-	VMC5c6	-
		13	3,07	2,9	7,3	GF13-01	7-21,22
		14	4,46	3,0	10,5	Gf14-04	64,9-78,05
	MW	16	5,67	2,5	13,2	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-13,09
		7	2,91	2,9	-	VMC8d11	-
		8	-	-	-	VMCNG2b6	-
		12	-	-	-	VMC5c6	-
		13	2,99	2,9	7,2	GF13-01	-
Anzahl		14	4,89	2,9	11,5	GF14-04	64,31-78,05
		16	3,83	2,5	9,1	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-16,09
		8	-	-	-	VMCNG2b6	-
		12	-	-	-	VMC5c6	-
		13	3,13	3,0	7,5	GF13-01	10,22-21,22
Zeit		14	6,75	3,0	15,5	GF14-04	65,95-77,01
		16	3,29	2,5	7,9	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-13,1
		14	5,50	2,9	12,8	GF14-04	66,95-83,62
		12	2,5	2,8	-	VMC5c6	-
		13	3,43	3,1	8,2	GF13-01	35,38-41,41
Pyknidien MW		14	5,01	2,9	11,7	GF14-04	65,95-79,05
		16	3,63	2,5	8,6	VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-17,1
		13	3,76	3,0	8,9	GF13-01	16,75-26,79
Läsionen MW		13	3,76	3,0	8,9	GF13-01	16,75-26,79

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert	Signifikanz-grenze	% Expl.	korrelierender Marker	Konfidenzintervall
		14	6,12	2,9	14,1	GF14-04	62,5-77,01
		16	-	-	-	VCHR16b_181; VCHR16c_158	-
	4 Klassen MW	13	4,04	2,8	9,7	GF13-01	11,81-26,76
		14	6,31	3,0	14,7	GF14-04	64,9-77,01
		16	3,1	2,4		VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-18,93
	5 Klassen MW	12	3,0	2,9		VMC5c6	-
		13	3,8	3,1		GF13-01	7,46-25,79
		14	7,1	2,8		GF14-04	65,95-79,05
		16	3,1	2,5		VCHR16b_181; VCHR16c_158	0-15,1
	2 Klassen	13	2,8	2,8		GF13-01	-
		14	4,0	2,9		GF14-04	57,55-75,05
		16	5,5	2,6		VCHR16b_181; VCHR16c_158	1-16,1

Gegenüberstellung der QTL aus dem IM und dem MQM

Tabelle 18: Darstellung der QTL im Vergleich zwischen IM und MQM. Aufgelistet sind der zugrundeliegende Datensatz und das Prüfmerkmal. Zudem sind die detektierten QTL mit der zugehörigen Kopplungsgruppe (LG), den maximalen LOD-Werten des IM und des MQM mit den jeweiligen Konfidenzintervallen beschrieben.

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM
2010-GF-01	4 Klassen MW	9	-	3,34	-	5,83-12,30
		10	2,80	5,58	34,76-37,823	33,76-38,18
		16	-	3,10	0-17,0	0,00-17,00
	5 Klassen MW	5	2,50	3,18	42,3-52,74	42,31-52,74
		9	-	3,68	-	4,00-15,40
		10	4,50	5,08	34,7-37,32	33,76-37,33
	Pyknidien	16	3,22	4,22	0-10,09	0,00-10,09
		10	5,85	5,80	34,75-37,32	34,75-37,32
		17	5,20	3,10	70,79-19,74	-
06.2010		7	3,11	3,84	44,1-54,97	44,10-54,97
		12	3,58	2,5	1,17-13,51	-
		14	3,83	4,34	0-10,06	89,62-99,68
08.2010		9	2,60	3,35	-	3,00-14,38
		10	4,28	4,2	33,70-41,25	33,70-41,25

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM
		16	2,87	3,05	0-18,92	0,00-18,92
		17	2,43	-	-	-
	Zeit	5	4,14	3,2	5,83-11,29	-
		10	4,47	4,65	33,75-37,32	33,75-37,32
		16	2,30	3,05	-	0,00-7,10
	3 Klassen	9	3,05	4,05	5-12,3	5,83-13,30
		10	5,66	5,42	33,7-37,32	33,70-37,32
		17	3,51	-	9,79-20,74	-
	2 Klassen	9	2,36	3,71	-	4,00-16,38
		10	5,13	5,58	34,76-37,32	34,76-37,32
		16	2,48	3,52	-	0,00-12,10
		17	3,22	-	-	-
2009-GF-02	MW	1	3,04	3,16	38,81-45,58	38,81-45,58
		4	3,24	3,28	78,51-89,75	78,51-89,75
2010-GF-03	Max	4	4,67	4,50	71,76-89,76	84,51-89,76
		14	2,8	4,00	25,43-34,73	64,9-75,05
	MW	4	4,61	4,57	71,76-89,76	84,51-89,76
		6	2,21	4,35	45,16-69,28	61,1-69,28
		14	2,80	4,52	25,43-34,73	64,9-75,05
		19	3,10	3,36	1-5,14	1,00-5,14
	Anzahl	2	3,09	2,89	47,47-68,67	51,00-66,69
		4	4,15	4,03	70,76-89,75	84,51-89,76
		14	2,80	3,39	25,43-32,73	63,50-75,05
	Zeit	4	4,17	3,58	70,76-89,76	84,51-89,76
		14	2,20	3,31	24,31-31,73	67,95-75,05
		19	4,08	3,52	2,49-16,65	1,00-5,14
	Pyknidien	4	4,38	3,69	70,76-85,19	84,51-89,76
	Läsionen	4	4,44	4,76	72,51-89,70	84,51-89,76
		14	3,78	4,81	20,62-35,73	65,95-75,05
	4 Klassen	4	5,34	4,88	72,51-89,76	84,51-89,76
		14	2,80	3,77	24,63-33,73	65,95-75,05
		19	2,81	2,54	0-16,65	0,00-5,14
	5 Klassen MW	4	4,56	3,88	73,51-89,76	84,51-89,76
		12	3,56	3,01	0-9,14	0,00-10,14
		14	2,50	3,74	24,63-35,73	63,50-75,05
		19	3,38	2,81	2,49-16,65	1,00-5,14
	2 Klassen	4	4,79	4,88	74,51-89,75	84,51-89,76
		12	3,19	3,05	0-9,14	0,00-10,14
		14	2,80	4,22	24,63-34,73	64,90-75,05
		16	2,80	3,97	5,1-23,76	5,10-23,76
2010-KR-04	Max	11	3,25	4,65	-	20,15-34,71
		14	2,87	2,11	26,43-57,79	-

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM
		15	2,40	2,82	7,74-20,9	8,74-18,14
		16	2,80	3,64	0-21,93	0,00-18,92
	MW	11	3,10	4,56	5,87-43,68	10,98-33,71
		14	3,76	2,80	36,13-57,79	41,89-63,50
		15	3,40	3,94	7,74-20,57	8,74-18,14
		16	2,20	3,56	0-22,93	0,00-18,93
	Anzahl	11	3,00	3,10	48,62-62,67	25,18-42,68
		14	3,00	2,91	20,63-45,17	63,50-75,05
		16	4,00	4,78	0-17,1	0,00-16,10
	Zeit	14	4,60	4,87	-	63,50-79,25
		15	3,80	5,08	25,43-45,17	8,74-18,14
		16	2,00	3,50	0-20,9	0,00-18,93
	Pyknidien	14	3,10	2,60	-	-
		15	3,20	3,59	7,74-20,57	9,74-17,23
		16	4,00	4,98	0-15,1	0,00-14,10
	Läsionen	14	2,20	1,80	-	-
		15	2,90	3,42	0-20,57	7,74-17,23
		16	3,10	4,11	0-20,93	0,00-18,10
	4 Klassen Max	14	3,20	3,13	23,63-57,79	63,50-79,25
		15	3,80	4,98	3-20,58	8,74-18,14
		16	3,50	5,11	0-14,1	0,00-12,10
	4 Klassen MW	14	2,50	2,00	-	-
		15	3,10	3,75	1-20,57	8,74-18,14
		16	3,70	4,70	0-18,1	0,00-15,10
	5 Klassen Max	14	3,80	3,30	24,63-57,79	79,25-63,50
		15	4,00	5,22	7,74-19,57	8,74-17,23
		16	3,70	5,37	0-15,1	0,00-11,10
	5 Klassen MW	14	2,50	2,30	-	-
		15	3,40	3,82	0-20,75	8,74-18,14
		16	3,50	4,5	0-17,1	0,00-14,10
	2 Klassen	14	3,80	4,03	24,63-56,79	63,5-79,25
		15	4,20	5,82	0-19,57	7,74-17,23
		16	3,40	5,26	0-19,93	0,00-18,10
2010-KR-05	Max	14	2,52	3,28	11,06-36,13	63,5-75,05
		16	7,15	5,06	3,01-18,1	0,00-18,93
	MW	2	2,18	3,68	9,6-31,62	20,19-21,74
		14	2,90	4,02	20,63-47,17	65,95-75,05
		16	5,85	4,15	2,1-19,93	0,00-24,76
	Anzahl	14	3,19	5,15	23,63-46,19	63,50-75,05
		16	4,34	4,41	0-17,1	0,00-18,93
	Zeit	6	3,56	2,34	22,87-31,94	21,87-28,94
		13	2,60	2,04	-	-

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM	
	Pyknidien	8	3,37	3,31	37,89-44,63	37,89-43,93	
		16	4,22	4,53	0-20,98	0,00-18,93	
	Läsionen	2	2,80	2,94	-	20,19-23,04	
		13	2,80	3,25	-	38,38-43,41	
		16	2,46	3,73	-	0,00-19,93	
	4 Klassen Max	14	2,80	4,02	-	65,95-75,05	
		16	4,00	4,66	0-20,93	0,00-18,93	
	4 Klassen MW	9	2,70	3,70	-	32,42-47,18	
		13	2,30	2,80	-	38,38-43,41	
		16	3,76	3,78	0-20,93	0,00-18,93	
	5 Klassen Max	13	3,10	3,36	32,75-42,41	38,38-43,41	
		14	-	3,79	-	62,50-75,05	
		16	4,14	4,61	0-18,93	0,00-18,93	
	5 Klassen MW	8	3,35	3,51	34,89-46,01	33,89-46,01	
		13	2,30	3,06	-	38,38-44,41	
		14	2,95	4,64	14,06-44,53	63,50-75,05	
		16	4,11	5,04	0-18,1	0,00-18,93	
	2 Klassen	6	2,93	1,39	21,87-38,98	-	
		13	3,00	2,77	-	38,38-44,41	
		16	3,50	3,82	0-16,1	0,00-18,93	
2011-KR-06	Max		keine QTL		-	-	
	MW	3	2,54	3,49	22,02-26,73	23,92-30,92	
	Anzahl	3	4,12	5,50	24,02-36,55	24,02-30,92	
		13	2,44	3,27	34,38-51,17	23,60-33,57	
		14	4,39	3,61	45,17-67,11	63,50-71,25	
	Zeit	9	2,73	3,64	19,38-49,18	37,12-49,18	
		13	2,99	2,80	34,38-44,41	23,37-29,99	
		14	4,11	2,46	51,94-68,12	63,50-75,05	
			15	3,77	3,21	0-8,74	24,26-27,97
	Pyknidien	3	2,96	3,73	23,02-38,37	23,02-30,73	
		15	2,35	3,17	0-28,31	24,26-28,31	
	Läsionen	3	2,60	3,38	23,02-41,43	22,02-30,92	
		14	4,64	3,92	45,17-67,11	63,50-75,05	
		15	3,16	3,03	0-11,74	24,26-27,96	
	4 Klassen MW	3	3,29	4,47	23,02-36,55	23,02-30,73	
		14	4,12	3,54	45,17-67,11	63,50-74,25	
		15	3,16	3,70	0-11,74	24,26-27,96	
	5 Klassen MW	3	3,40	5,58	11,35-36,55	23,02-30,92	
		14	4,01	3,46	45,17-66,11	63,50-74,25	
			15	2,89	3,76	0-18,17	24,26-27,96
	4 Klassen Max	3	2,85	3,93	22,02-35,9	24,02-30,73	

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM
		15	2,14	3,17	0-21,9	24,26-27,96
	5 Klassen Max	15	3,70	3,20	0-27,76	24,26-27,96
	2 Klassen	3	3,40	3,75	30,92-40,37	23,02-30,92
		13	3,75	3,08	18,87-51,16	23,37-29,99
2011-KR-07	Max	14	4,82	3,33	23,63-35,73	65,95-75,05
		15	2,99	2,71	0-31,89	0,00-31,89
	MW	5	3,59	2,52	9,07-30,74	25,80-30,74
		13	2,46	3,51	7,46-22,22	25,79-32,57
		14	4,89	3,48	21,63-32,71	66,95-75,05
	Anzahl	14	4,89	3,70	21,63-32,73	66,95-75,05
	Zeit	keine QTL				
	Pyknidien	14	4,62	3,41	20,63-33,73	64,90-75,05
	Läsionen	13	2,91	-	2-21,22	-
		14	5,43	4,03	20,63-32,73	64,31-75,05
	4 Klassen MW	13	3,47	3,99	7-20,22	14,81-18,97
		14	5,98	4,54	20,63-33,73	66,95-75,05
	5 Klassen MW	13	3,05	3,57	7,46-21,22	13,81-18,87
		14	5,76	4,55	20,63-32,73	66,95-75,05
	4 Klassen Max	5	3,65	3,22	18,24-24,22	25,87-30,74
		14	6,02	4,46	22,63-33,73	64,90-75,05
	5 Klassen Max	14	5,55	4,24	21,63-33,73	65,95-75,05
	2 Klassen	8	3,91	3,64	59,71-79,01	60,71-80,98
2011-KR-08	Max	14	4,65	3,61	1-28,43	89,62-99,68
		16	3,57	4,83	0-2,1	0,00-2,10
		17	2,52	3,11	0-36,3	24,76-31,38
	MW	5	3,37	2,97	28,1-35,74	29,03-35,74
		14	4,90	3,49	5-28,43	65,95-75,05
	Anzahl	14	7,40	7,45	18,12-28,43	68,95-75,05
		16	2,83	3,90	0-17,1	0,00-2,10
		17	4,08	3,40	21,77-34,30	28,77-33,30
	Zeit	14	7,15	6,72	13,06-26,43	71,25-75,05
		17	3,58	3,47	21,77-36,30	30,77-36,30
	Pyknidien	14	7,18	7,14	13,06-26,43	71,25-75,05
		17	3,45	3,14	23,77-35,30	30,77-35,30
	Läsionen	14	5,29	5,25	12,06-27,43	71,25-76,05
		17	3,24	3,18	10,79-36,30	30,76-36,71-
	4 Klassen MW	14	6,89	6,80	10,06-27,43	68,95-75,05
		16	2,20	2,88	-	0,00-2,10
		17	4,48	4,09	24,77-36,71	30,77-33,30
	5 Klassen MW	14	7,62	7,05	6-26,43	71,25-75,05
		16	2,70	3,47	0-14,1	0,00-2,10
		17	3,83	3,48	23,77-35,30	30,77-34,30

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM	
	4 Klassen Max	14	4,69	4,28	0-31,73	66,95-75,05	
		15	2,97	3,62	24,4-32,63	27,76-30,89	
		16	2,66	3,73	0-22,93	0,00-2,10	
		17	3,79	2,78	22,77-34,3	27,77-34,30	
	5 Klassen Max	14	7,53	6,03	0-25,43	68,95-75,05	
		16	3,12	4,11	0-14,1	0,00-2,10	
		17	2,98	3,18	22,77-35,3	27,77-31,38	
	2 Klassen	14	3,01	2,53	0-32,73	64,90-75,05	
Gesamt	Zeit	14	4,91	4,91	18,12-25,73	64,31-75,05	
		Pyknidien	8	2,73	3,23	37,89-79,1	37,89-50,88
			13	4,08	3,74	35,38-41,41	35,38-41,41
			14	4,65	4,73	26,63-35,73	64,31-75,05
	4 Klassen	16	4,72	5,28	0-16,1	1,00-17,10	
		13	3,84	2,42	16,76-27,79	19,87-23,60	
		14	5,55	5,37	22,63-36,13	64,31-75,05	
	5 Klassen MW	16	4,45	4,68	0-18,1	1,00-18,93	
		14	6,26	6,13	21,63-35,73	64,31-75,05	
		16	4,66	5,12	0-17,1	1,00-18,10	
	2 Klassen	14	4,15	4,40	25,43-44,52	63,5-74,25	
		16	4,24	4,43	0-15,1	1,00-17,10	
		4	2,66	3,41	69,76-89,76	84,51-89,76	
Mo05	MW	15	2,74	3,35	7,74-21,9	18,14-20,90	
		16	3,13	4,57	2-22,93	3,10-18,93	
		14	3,89	3,89	36,13-47,17	63,50-73,25	
Mo05+GF10	Max	16	6,47	7,22	1-16,1	2,00-16,10	
		14	4,47	4,48	36,13-46,17	63,50-73,25	
	MW	16	5,12	5,73	0-16,1	1,00-16,10	
		3	3,19	3,85	23,02-30,73	12,76-30,73	
	Anzahl	14	5,06	4,67	52,79-67,15	63,50-70,25	
		16	3,49	3,85	0-17,1	0,00-18,10	
		13	3,52	4,27	35,38-42,41	32,57-42,41	
	Pyknidien	14	3,63	3,11	36,13-48,17	64,50-75,05	
		16	4,44	4,45	0-16,1	0,00-18,10	
		13	3,42	3,72	16,76-27,79	34,38-43,41	
	Läsionen	14	5,09	4,11	32,73-47,17	63,50-71,25	
		16	2,91	3,04	0-21,93	1,00-18,93	
		13	3,12	2,08	16,76-25,6	-	
	4 Klassen Max	14	5,06	4,90	36,13-49,17	63,50-72,25	
		16	5,52	5,78	0-15,1	1,00-17,10	
		13	2,95	3,57	16,76-27,79	32,57-42,41	
	4 Klassen MW	14	4,53	4,06	36,13-59,74	63,50-73,25	
		16	4,10	4,15	0-18,1	0,00-18,93	

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM
GF10	5 Klassen Max	14	5,58	4,19	36,13-49,17	63,5-75,05
		16	3,65	5,73	0-2,1	23,02-29,73
	5 Klassen MW	14	4,87	3,13	36,13-49,17	63,50-72,25
		16	3,68	2,99	0-18,1	0,00-18,93
	2 Klassen	14	4,16	4,71	31,73-69,12	63,5-75,05
		16	4,83	5,24	0-15,1	0,00-15,10
	Max	12	3,36	4,07	36,85-50,74	35,85-51,92
		13	3,52	3,66	7,46-19,87	13,81-20,22
		14	3,87	3,22	6,0-33,73	66,95-75,05
		16	2,46	2,75	-	0,00-2,10
	MW	12	3,27	4,47	36,85-50,74	37,85-50,74
		13	3,59	2,76	8,46-26,79	19,87-23,6
		14	4,14	3,48	7-34,73	64,90-75,05
		Anzahl	13	3,18	2,17	0-21,37
		14	4,89	4,13	21,63-31,73	64,90-75,05
		Zeit	14	4,48	3,93	12,06-29,73
		17	3,09	3,02	14,81-24,77	14,81-25,77
		Pyknidien	5	3,05	2,27	26,09-30,74
		12	3,20	3,16	-	37,85-50,74
		14	4,79	4,05	16,06-31,73	67,95-75,05
Läsionen MW	12	3,17	3,16	38,85-48,74	37,85-49,74	
	14	4,64	3,94	17,06-30,73	68,95-75,05	
4 Klassen MW	13	3,54	2,81	10,22-26,79	19,87-73,60	
	14	6,35	5,56	17,06-35,73	67,95-75,05	
5 Klassen MW	13	3,19	2,43	10,22-26,79	18,87-23,60	
	14	6,51	5,75	14,06-29,73	68,95-75,05	
4 Klassen Max	5	3,34	2,66	26,09-36,95	30,74-41,31	
	13	3,47	2,75	10,22-26,79	19,87-23,60	
	14	5,59	5,04	20,12-33,73	66,95-75,05	
	5 Klassen Max	14	5,80	5,18	18,12-34,73	67,95-75,05
Gesamt KR	Max	13	3,07	2,75	7-21,22	10,22-20,22
		14	4,46	5,30	21,12-34,73	66,95-75,05
	16	5,67	5,21	0-13,09	0,00-3,10	
	MW	7	2,91	-	-	-
	13	2,99	-	-	-	
	14	4,89	5,37	21,63-35,73	65,95-75,05	
	16	3,83	3,43	0-16,09	0,00-12,10	
	Anzahl	13	3,13	-	10,22-21,22	-
	14	6,75	7,06	22,63-33,73	65,95-75,05	
	16	3,29	3,47	0-13,1	0,00-2,10	
Zeit	14	5,50	5,61	16,06-32,73	65,95-75,05	
	Pyknidien	12	2,50	2,50	-	-

Datensatz	Prüfmerkmal	LG	LOD-Wert IM	LOD-Wert MQM	Konfidenzintervall IM	Konfidenzintervall MQM
		13	3,43	3,27	35,38-41,41	35,38-41,11
		14	5,01	4,86	20,12-33,73	65,95-75,05
		16	3,63	2,60	0-17,1	-
	Läsionen	13	3,76	3,41	16,75-26,79	35,38-41,41
		14	6,12	5,95	22,63-37,13	64,9-75,05
	4 Klassen	13	4,04	2,56	11,81-26,76	19,87-23,60
		14	6,31	6,33	22,63-34,73	64,9-75,05
		16	3,10	3,11	0-18,93	0,00-14,10
	5 Klassen	12	3,00	2,05	-	-
		13	3,80	-	7,46-25,79	-
		14	7,10	7,29	20,63-33,73	65,95-75,05
		16	3,10	2,84	0-15,1	0,00-14,10
	2 Klassen	13	2,80	2,50	-	-
		14	4,00	4,83	24,63-42,52	63,50-74,25
		16	5,50	4,38	1-16,1	0,00-11,10

EIGENSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Hiermit erkläre ich, Friederike Rex, die vorliegende Dissertation selbstständig angefertigt zu haben. Ich habe keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt sowie die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche kenntlich gemacht und die Satzung der Universität Karlsruhe zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis in der jeweils gültigen Fassung beachtet.

DANKSAGUNG

Dank an

- Apl. Prof. Dr. Eva Zyprian für die Betreuung der Promotion an der Universität Karlsruhe und der ständigen Bereitschaft bei Fragen oder Schwierigkeiten Hilfestellung zu leisten
- Dr. Ludger Hausmann für die Betreuung des Projektes am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof und die vielen wertvollen Gespräche
- Dr. habil. Reinhard Töpfer für die Möglichkeit der Durchführung des Projektes am Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof und die wichtigen Denkanstöße
- Dr. Iris Fechter, Dr. Martina Bonow-Rex und Dr. Florian Schwander für die ständigen Hilfestellungen, die praktischen Ratschläge und die gute Zusammenarbeit
- Margrit Daum, Andreas Preiss und Claudia Welsch, sowie allen im Labor für die Hilfe bei kleineren und größeren Problemen und die gute Zusammenarbeit
- Willi Gläsgen und Eberhard Corfier mit ihren Kolleginnen für die Beschaffung und Pflege der Pflanzen
- Franziska Huber und Monika Dralle für ihre freiwilligen Arbeitseinsätze, sowie allen Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Rebenzüchtung Geilweilerhof für die gute Zusammenarbeit

Danken möchte ich auch meiner Mutter Christa, meinem Vater Udo und seiner Ehefrau Valerie, meiner Schwester Franziska und meiner Tante Annelene, ebenso wie meinen verstorbenen Großeltern Helna und Hans, die immer an mich geglaubt haben und deren Unterstützung mir sehr geholfen hat.

Besonders danken möchte ich Moritz für seine tägliche Unterstützung, sein Verständnis und seinen Mut.

LEBENS LAUF

Persönliches

Name: Friederike Rex
Geburtsdaten: am 7. April 1982 in Viersen

Schulen und Studium

08/88 – 06/92 Paul Weyers – Grundschule, Viersen
08/92 – 06/01 Albertus Magnus – Gymnasium, Viersen
Abschluss: Abitur
10/01 – 03/02 Johannes Gutenberg – Universität Mainz
Magisterstudiengang Geschichte und
Buchwissenschaft
04/02 – 03/09 Johannes Gutenberg – Universität Mainz
Diplomstudiengang Biologie
Abschluss: Diplom

Berufliche Tätigkeiten

08/09 – 07/12 Julius Kühn – Institut,
Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof
Wissenschaftliche Mitarbeiterin/ Doktorandin

