
Sektion 3

Resistenzzüchtung / Widerstandsfähigkeit

03-4 - Nachhaltigkeit in der Kartoffelproduktion durch Prebreeding zur Steigerung der Krankheitsresistenz

Enhanced Sustainability in Potato Production via Pre-Breeding for Disease Resistance

Thilo Hammann¹, Kerstin Lindner²

¹ Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, thilo.hammann@julius-kuehn.de

² Julius Kühn-Institut, Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland

Einleitung

Die Kartoffel (*Solanum tuberosum*) ist eine Kulturart, die mit ihrer günstigen Komposition an Inhaltsstoffen wesentlich zur Sicherung der Welternährung beiträgt. Durch sich verändernde Umweltbedingungen und die wachsende Gefährdung durch zunehmend aggressive oder neue Schaderreger, bei gleichzeitig fortschreitender Einengung der Spielräume für den chemischen Pflanzenschutz durch gesellschaftliche und agrarpolitische Entwicklungen, sehen sich Produzenten, Züchter und Agrarforscher wachsenden Herausforderungen gegenüber.

Die Kraut- und Knollenfäule (*Phytophthora infestans*, *P.i.*) ist die größte Bedrohung für eine nachhaltige Kartoffelproduktion, diese Krankheit verursacht jährlich weltweit Schäden in Milliardenhöhe (Haverkoort et al. 2008). Dominante R-Gene aus *Solanum demissum* brachten nur kurzzeitigen Erfolg im Kampf gegen diesen Schaderreger. Unser Ziel ist die Evaluierung und Erschließung pflanzengenetischer Ressourcen mit genetisch breit angelegter, quantitativer *P.i.*-Resistenz und guten Qualitätseigenschaften, um eine umweltverträglichere Kartoffelproduktion mit reduziertem Fungizideinsatz und geringeren Produktionskosten zu ermöglichen.

Material und Methoden

JKI-Prebreeding-Stämme und Vergleichssorten wurden mehrjährig in einem Feldversuch mit Inokulation sowie mit verschiedenen Labortests in ihrer Anfälligkeit gegen die Kraut- und Knollenfäule geprüft (Hammann et al. 2009). Reifezeit, Ertrag, Qualität und Nassfäulereaktion wurden in separaten Versuchen bestimmt.

Ergebnisse

Verschiedene JKI-Stämme der frühen bis mittelfrühen Reifegruppe wiesen in mehrjährigen Feldversuchen niedrige Δ -rAUDPC-Werte auf. Dies demonstriert den Fortschritt in der Züchtung auf *P.i.*-Resistenz, ebenso wie die Überwindung der Korrelation zwischen geringem Befall und später Abreife. Der Blatttest im Labor lieferte ähnliche Ergebnisse. Einige Zuchtstämme zeigten zudem eine geringe Anfälligkeit gegen Nassfäule und gute Qualitätseigenschaften.

Die Ergebnisse zeigen das hohe Potenzial dieser erst teiladaptierten genetischen Ressourcen als Resistenzdonoren.

Literatur

Hammann, T., R. Thieme, B. Truberg, 2009: Improving resistance to late blight (*Phytophthora infestans*) by using interspecific crosses in potato (*Solanum tuberosum* Ssp.). In: Crop Plant Resistance to Biotic and Abiotic Factors. Feldmann F., D. V. Alford, C. Furk, Braunschweig, Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, 407–414.

Haverkort A. J., P. M. Boonekamp, R. C. B. Hutten, E. Jacobsen, L. A. P. Lotz, G. J. T. Kessel, R. G. F. Visser, E. A. G. van der Vossen, 2008: Societal costs of late blight in potato and prospects of durable resistance through cisgenetic modification. *Potato Res.* 51 (1), 47–57.

03-5 - Hyperspektrale und Genexpressions-Analysen von Resistenzreaktionen gegenüber Pflanzenkrankheiten

Hyperspectral and gene expression profiling of plant disease resistance

Matheus Thomas Kuska, Mirwaes Wahabzada, Stefan Thomas, Sina Tüffers, Heinz-Wilhelm Dehne, Ulrike Steiner, Erich-Christian Oerke, Anne-Katrin Mahlein

Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Phytomedizin - Abteilung Pflanzenkrankheiten, Meckenheimer Allee 166 a, 53115 Bonn, mkuska@uni-bonn.de

Hyperspektrale Verfahren finden zurzeit vielfältige Anwendungen für die Erfassung von Pflanzenkrankheiten (Mahlein *et al.*, 2016). Darüber hinaus haben sie auch ein Potential zur Erfassung spezifischer Wirt-Pathogen-Interaktionen und pflanzliche Abwehrmechanismen (Leucker *et al.*, 2016). Um diese Erkenntnisse für die Züchtungsforschung effizienter zu machen, ist eine Verknüpfung von phänotypischen Sensordaten mit molekularbiologischen Untersuchungen wünschenswert.

Die aus den kompatiblen und inkompatiblen Wirt-Pathogen-Interaktionen, resultierenden spektralen Reflexionen konnten mithilfe von parallel durchgeführten Untersuchungen zur Genexpressionsanalyse interpretiert werden. Dies ermöglichte eine Unterscheidung der Genotypen schon wenige Stunden bis Tage nach der Inokulation mit einem pilzlichen Erreger. Als Modellsystem zur Differenzierung von Resistenzreaktionen wurden *mlo3*- und *Mla1*-resistente, nah-isogene Linien der Sorte Ingrid und Pallas bis 72 Stunden nach Inokulation mit *Blumeria graminis* f. sp. *hordei* (*Bgh*) hyperspektral gemessen. Die Genexpression von Pathogenese- und Resistenz korrelierten Genen wurde mit einer qPCR zeitgleich analysiert und zeigten unterschiedliche Profile über den Messzeitraum. Das Muster der spektralen Signaturen der anfälligen und *mlo3*-resistenten Genotypen konnte mit der Expressierung der Seneszenzindikatoren *HvDRF* und *RuBisCo* korreliert werden. Die Expression des β -1,3-Glucanase Transkripts zeigte ebenfalls eine hohen Korrelationskoeffizienten ($r = 0,81$) mit der hyperspektralen Signaturen der inokulierten, anfälligen Gerste. Eine erhöhte Expression wurde dabei zum Zeitpunkt der Penetration, ausgehend von den Konidien und anschließend von allen epiphytisch wachsenden Hyphen von *Bgh* beobachtet. Die hyperspektrale Signatur des resistenten *Mla1* Genotypen verhält sich entgegengesetzt zu den anfälligen Gerstengenotypen über den Versuchszeitraum. Die Genexpressionsprofile zeigten dabei ebenfalls wesentliche Unterschiede in der Resistenzantwort und den Zellsignalen.

Diese Erkenntnisse bilden die Grundlage für eine hyperspektrale Phänotypisierung des Genotyps in der Resistenzzüchtung.

Literatur

Leucker M., Mahlein A.-K., Steiner U., Oerke E.-C., 2016. Improvement of lesion phenotyping in *Cercospora beticola*-sugar beet interaction by hyperspectral imaging. *Phytopathology* 2,177-184.

Mahlein A.-K., 2016. Plant disease detection by imaging sensors – parallels and specific demands for precision agriculture and plant phenotyping. *Plant Disease* 100 (2),241-251.

03-6 - Hyperspektrale Erfassung der zeitlichen und räumlichen Entwicklung von *Cercospora*-Blattflecken auf Zuckerrüben unterschiedlicher Krankheitsresistenz

Temporal and spatial development of Cercospora leaf spot on sugar beet genotypes differing in disease resistance analyzed by hyperspectral imaging

Marlene Leucker, Mirwaes Wahabzada, Anne-Katrin Mahlein, Ulrike Steiner, Erich-Christian Oerke

Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz (INRES) - Phytomedizin, mleucker@uni-bonn.de

Die Züchtung von krankheitsresistenten Kulturpflanzen ist eine wichtige und nachhaltige Strategie zur langfristigen Kontrolle von Pflanzenkrankheiten. Dabei ist das Verständnis der genetischen Grundlage von komplexeren Merkmalen wie der Krankheitsresistenz mit dem Fortschritt in molekularen Techniken gewachsen. Neben dem genetischen Hintergrund haben die Umwelt und deren Interaktion mit dem Genotyp einen entscheidenden Einfluss auf den Phänotyp. Eine effektive und zuverlässige Evaluierung der Zuchtlinien ist eine wichtige Voraussetzung für den Selektionsprozess, jedoch oft schwierig und sehr aufwendig. Die sensorgestützte Phänotypisierung soll durch eine Objektivierung und Automatisierung des Selektionsverfahrens zu einem schnelleren und besserem Züchtungserfolg beitragen. *Cercospora beticola* verursacht die bedeutendste Blattkrankheit der Zuckerrübe und die Züchtung resistenter Sorten mit einem hohen Ertragspotential ist eine große Herausforderung.

Die quantitativen Resistenzeigenschaften von homozygoten Zuchtlinien gegen *C. beticola* wurden anhand der befallenen Blattfläche und mittels hyperspektraler Reflexionsmessungen erfasst. Für eine entsprechende Vergrößerung von 1,15 bis 7,3 wurde ein hyperspektrales Mikroskop (Leucker *et al.* 2015), das den Wellenlängenbereich von 400 bis 1000 nm aufnimmt, verwendet. Die zeitliche und räumliche Entwicklung der *Cercospora*-Blattflecken wurde auf *Beta vulgaris*-Genotypen mit unterschiedlicher Krankheitsresistenz charakterisiert.

Durch die Erfassung der befallenen Blattfläche konnten anfällige und resistente Genotypen differenziert werden. Geringe Resistenzunterschiede waren jedoch nicht detektierbar. Die spektrale Entwicklung der Läsionen war unterschiedlich und abhängig vom Wirtsgenotyp. Die Läsionensentwicklung und die Veränderungen der spektralen Signaturen auf den anfälligen Genotypen waren langsamer, letztlich ausgeprägter als auf den resistenten Zuckerrüben. Die Läsionen konnten anhand der spektralen Eigenschaften in drei Bereiche unterteilt werden. Zuckerrüben-Genotypen mit höherer Resistenz hatten typischerweise Läsionen mit kleineren Zentren verglichen mit Läsionen auf anfälligen Genotypen. Dementsprechend war auch die Sporulation (Anzahl der Konidien pro mm² Läsion) auf den resistenten Pflanzen niedriger. Dieser Unterschied in der Sporulation ließ sich auch durch die Berechnung der Fläche zwischen den spektralen Signaturen vor und nach Induktion der Sporulation erfassen.

Die spektrale Charakterisierung der Zuchtlinien ermöglicht eine feinere Differenzierung der quantitativen Resistenz und könnte damit den Selektionsprozess beschleunigen.

Literatur

Leucker, M., A.-K. Mahlein, U. Steiner, and E.-C. Oerke, 2016: Improvement of lesion phenotyping in *Cercospora beticola* – sugar beet interaction by hyperspectral imaging. *Phytopathology* 106 (2), 177-184.

03-7 - Vom Symptom zum Transkriptom – *Aphanomyces cochlioides* in resistenten und anfälligen Zuckerrüben genotypen

Of symptoms and transcriptomes – Aphanomyces cochlioides in sugar beet genotypes

Daniela Christ¹, Andreas Benke²

¹Institut für Zuckerrübenforschung, Göttingen, christ@ifz-goettingen.de

²Strube Research GmbH & Co. KG, Schlanstedt

Aphanomyces cochlioides belongs to the economically most important pathogens in worldwide sugar beet production. The soil-borne oomycete causes damping-off in seedlings as well as *Aphanomyces* root rot (ARR) in mature beets. As fungicidal control is restricted to seedling infection, cultivar resistance is the only strategy available to avoid severe losses due to ARR. However, little is known about the genetic basis of ARR resistance. A bioassay with genotypes differing in their reaction to *A. cochlioides* was developed in the greenhouse. At 10 days post inoculation (dpi), beets of the susceptible genotype uniformly displayed severe ARR symptoms; thus allowing for a clear visual distinction. In order to identify key events in the early infection process and to determine sampling dates for transcriptome analysis, confocal laser scanning microscopy was applied. Subsequently, pathogen-induced differentially expressed genes in a susceptible and a resistant genotype at 4 and 7 dpi were identified by RNA-sequencing. On average, 95.8% of the reads were mapped to the sugar beet genome. In order to validate potential resistance associated genes, a subset of the 68 (4 dpi) and 69 (7 dpi) differentially expressed genes was further analyzed by quantitative RT-PCR. The results of this study will increase the understanding of host-/pathogen-interaction in this important plant-oomycete pathosystem.

03-8 - Genomweite Assoziationsstudien zur Resistenz gegenüber *Pyrenophora teres f. teres* in Gerste (*Hordeum vulgare*)

Genome wide association studies for resistance to Pyrenophora teres f. teres in barley (Hordeum vulgare)

Fluturë Novakazi¹, Doris Kopahnke¹, Anna Anisimova², Olga Afanasenko², Frank Ordon¹

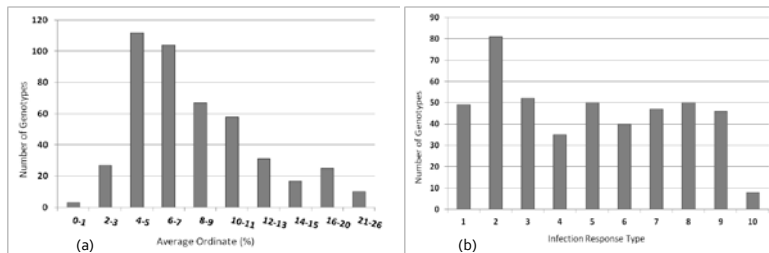
¹Julius Kühn-Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, fluture.novakazi@julius-kuehn.de

²All-Russian Research Institute of Plant Protection

Pyrenophora teres f. teres (PTT) ist der Erreger der Netzfleckenkrankheit in Gerste. Er ist weltweit verbreitet und eine Infektion kann zu Ertragsausfällen von bis zu 20% oder sogar Totalausfällen führen. Resistente Sorten bieten hier den effektivsten Schutz. Um Resistenzquellen zu identifizieren, wurden in einem Vorgängerprojekt 10.000 Gerstenakzessionen, inklusive Landrassen und Hohertragsorten, unter Gewächshaus- und Feldbedingungen auf Netzfleckenresistenz getestet. Aus diesen Versuchen ergaben sich 450 Akzessionen, welche unterschiedliche Resistenzlevels gegenüber PTT zeigen.

Für die Gewächshausversuche wurden die Pflanzen im BBCH-Stadium 31-32 mit einer Sporensuspension der Konzentration 5000 Sporen/mL inokuliert. Nach 14 Tagen wurden die Blattsymptome mit Hilfe der zehnstufigen Tekauz-Skala (1985) bonitiert. Feldversuche wurden im Summer Hill Versuchsdesign (König et al., 2013) angelegt. Dafür wurden die Akzessionen Anfang August in Horsten, mit 25 Körnern pro Horst, ausgesät und der

Krankheitsverlauf (% befallene Blattfläche) mindestens dreimal im Abstand von zwei Wochen erfasst.



Häufigkeitsverteilung der Reaktion von Gerstenakzessionen nach Befall mit *Pyrenophora teres* f. *teres*, Summer Hill Versuch (a), nach Gewächshausinokulation (b).

Die Akzessionen wurden mit dem Barley gk iSelect Chip genotypisiert. Alle Berechnungen basierten auf der Konsensuskarte von Silvar et al. (2015). Marker mit einer Allelfrequenz $MAF < 5\%$ und mit fehlenden Werten $> 10\%$ wurden entfernt. Die Populationsstruktur wurde basierend auf der Principle Coordinate Analyse mit der Software DARwin5 berechnet. Die Assoziationsstudien wurden mit der Software TASSEL 5 mit einem Mixed Linear Model (MLM) einschließlich der Populationsstruktur und der Kinship, sowie einer False Discovery Rate von $FDR = 0,1$ berechnet.

Mit Hilfe der Marker-Merkmalassoziationen konnten sechs Regionen identifiziert werden, welche eine Assoziation mit PTT-Resistenz aufweisen. Auf den Chromosomen 1H, 4H und 7H konnten Assoziationen basierend auf den Felddaten gefunden werden, auf 3H, 5H und 6H basierend auf den Gewächshausversuchsdaten. In einem nächsten Schritt werden die Marker-Merkmalassoziationen in weiteren Versuchen verifiziert und später in verschiedenen DH-Populationen validiert.

Literatur

- König, J., D. Perovic, D. Kophanke, F. Ordon, 2013: Development of an efficient method for assessing resistance to the net type of net blotch (*Pyrenophora teres* f. *teres*) in winter barley and mapping quantitative trait loci for resistance. *Mol. Breed.* **32**, 641-650.
- Silvar, C., M. M. Martis, T. Nussbaumer, N. Haag, R. Rauser, J. Keilwagen, V. Korzun, K. F. X. Mayer, F. Ordon, D. Perovic, 2015: Assessing the barley genome zipper and genomic resources for breeding purposes. *Plant Genome* **8** (3), 1-14.
- Tekauz, A., 1985: A numerical scale to classify reactions of barley to *Pyrenophora teres*. *Can. J. Plant Pathol.*, **12**, 141-148.