



Universität für Bodenkultur Wien
Department für Nutzpflanzenwissenschaften
Institut für Pflanzenzüchtung

Bachelorarbeit

Markergestützte Selektion auf Steinbrandresistenz bei Winterweizen für den ökologischen Landbau

Eingereicht von

Kilian Pfatrish, 11901396

Martina Sternbauer, 11914219

Betreuer: Ao. Univ. Prof. Dipl.- Ing. Dr. nat. techn. Heinrich Grausgruber

(951109) Bachelorseminar Pflanzliche Produktion

Zur Erlangung des akademischen Grades

Bachelor of Science (B.Sc.)

Studiengang: UH 033 255 Bachelorstudium Agrarwissenschaften

Wien, Mai 2022

Eidesstattliche Erklärung

Wir erklären eidesstattlich, dass wir die vorliegende Bachelorarbeit selbständig angefertigt, keine anderen als die angegeben Hilfsmittel benutzt und alle aus ungedruckten Quellen, gedruckter Literatur oder aus dem Internet im Wortlaut oder im wesentlichen Inhalt übernommenen Formulierungen und Konzepte gemäß den Richtlinien wissenschaftlicher Arbeiten zitiert bzw. mit genauer Quellenangabe kenntlich gemacht haben.

Wien, 30.05.2022

Ort, Datum

K. Pfatrisch

Unterschrift Kilian Pfatrisch

Wien 30.05.22

Ort, Datum

M. Sternbauer

Unterschrift Martina Sternbauer

Vorwort

Diese Arbeit wurde durchgeführt im Rahmen des Horizon 2020 Projektes ECOBREED: Increasing the efficiency and competitiveness of organic crop breeding (Grant Agreement 771367).



ecobreed
IMPROVING CROPS



Funded by European Union
Horizon 2020
Grant agreement No 771367

Abkürzungsverzeichnis

°C	Grad Celsius
AFLP	Amplified Fragement Length Polymorphism
ARM	Arminius
AXA	Axaro
BC ₁ F _x /BC ₂ F _x	Erste/zweite Rückkreuzung mit neuem Elternteil
BMLRT	Bundesministerium für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus
BMEL	Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft
BOKU	Universität für Bodenkultur Wien
BSA	Bundessortenamt
BST	Bernstein
bzw.	beziehungsweise
CAP	Capo
cm	Zentimeter
DNA	Desoxyribonukleinsäure
EGD	Ehogold
EU	Europäische Union
F ₁ /F ₂ /F ₃	Erste/zweite/dritte Filialgeneration nach Kreuzung
g	Gramm
GEN	Genius
ha	Hektar
KASP	Kompetitive Allele Specific PCR
KOL	MV Kolompos
Lfl	Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft
m ²	Quadratmeter
MAS	Marker-gestützte Selektion
MID	Midas
MYB	Myeloblastosis
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
QTL	Quantitative trait locus
RAPD	Random Amplified Polymorphic DNA
RFLP	Restriction Fragement Lenght Polymorphism

r _P	Pearson-Korrelationskoeffizient
SNP	Single Nucleotide Polymorphism
SPO	Spontan
SSR	Simple Sequence Repeats
TOB	Tobias
TOM	Tommi
TOR	Toras
TSP	Tillstop
USDA	United States Department of Agriculture

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	II
Vorwort	III
Abkürzungsverzeichnis.....	IV
1 Einleitung und Fragestellung.....	1
2 Literaturübersicht.....	2
2.1 Weizen als konventionelle und biologische Kulturpflanze.....	2
2.2 Steinbrand – eine Gefahr für die globale Weizenproduktion.....	4
2.3 Die Rolle der markergestützten Selektion in der Pflanzenzüchtung	8
3 Material und Methodik	12
3.1 Pflanzenmaterial.....	12
3.2 Genotypisierung der neuen Züchtungslinien mittels KASP Marker.....	14
3.3 Feldexperiment.....	15
3.3.1 Inokulation und Aussaat.....	15
3.3.2 Evaluierung des Befalls.....	16
3.4 Statistische Analyse phänotypischer Daten	17
4 Ergebnisse und Diskussion	18
4.1 Vergleich der Infektionszahlen aus Feld- und Labormessung	18
4.2 Partieller Befall innerhalb einer infizierten Ähre	21
4.3 Ergebnis des Sortenvergleichs.....	24
4.4 Resistenz der Marker-getesteten Züchtungslinien	28
4.5 Resistenz unterschiedlicher QTL-Kombinationen	30
4.6 Einfluss von Grannen auf die Infektionsanfälligkeit.....	33
5 Zusammenfassung.....	35
Abbildungsverzeichnis	36
Tabellenverzeichnis	37
Literatur- und Quellenverzeichnis.....	38
Anhang	44
Anhang A: Übersicht über getestete Sorten bzw. Züchtungslinien.....	44
Anhang B: Infektionszahlen Sortenversuch	46
Anhang C: Evaluation of ECOBREED winter wheat germplasm for common bunt resistance.....	47

1 Einleitung und Fragestellung

Seit Beginn des Ackerbaus gefährden Pflanzenkrankheiten und Schädlinge die Versorgungssicherheit unserer Zivilisation. Neben tierischen Schaderregern, Bakterien und Viren spielen Pilzinfektionen eine dominante Rolle für den Ertrag und die Qualität der pflanzlichen Produktion. Die große Hungersnot in Irland durch die Kraut- und Knollenfäule (*Phytophthora infestans*), oder die großflächige Infektion von Roggen mit dem Mutterkornpilz (*Claviceps purpurea*) im Mittelalter sind nur einige Beispiele für die verheerenden Folgen der Ausbreitung pflanzlicher Pathogene (Börner et al., 2009). Für die weltweite Weizenproduktion ist der Weizensteinbrand eine der wichtigsten und gefährlichsten Pilzkrankheiten. Tatsächlich stellt der Fund von Steinbrand auf Weizen im 18. Jahrhundert den weltweit ersten Nachweis eines mikrobiellen Pathogens auf Pflanzen dar (Hallmann & von Tiedemann, 2019). Die besondere Bedeutung dieser Krankheit wird darüber hinaus durch bestätigte Hinweise auf einen möglichen Einsatz als biologischen Kampfstoff im Ersten Golfkrieg gegen landwirtschaftliche Flächen im Iran belegt (Suffert et al., 2009).

Ab Mitte des 20. Jahrhunderts waren viele Pflanzenkrankheiten wie auch der Steinbrand durch den großflächigen Einsatz von chemischen Pflanzenschutzmitteln gebannt. Eine Renaissance erleben einige dieser Erreger erneut durch die Verbreitung des ökologischen Landbaus und die damit einhergehende Abkehr von konventionellen Methoden im Pflanzenschutz. Der Fokus liegt nun wieder verstärkt auf der Pflanzenzucht und der Schaffung neuer Sorten, die resistent gegen biotische und abiotische Stressfaktoren sind. Aufgrund der hohen Effektivität von chemischer Saatgutbeizung gegen Infektionen mit Weizensteinbrand wurde die Züchtung resistenter Sorten ab den 1950er Jahren jedoch vernachlässigt (Matanguihan et al., 2011). Die folgende Arbeit soll daher einen Beitrag dazu leisten, den wachsenden Bedarf nach steinbrandresistenten Weizensorten wieder aufzuholen.

Das Ziel dieser Bachelorarbeit ist zum einen, die Ergebnisse des Steinbrandfeldversuchs unterschiedlicher Weizensorten 2021 in Tulln, Österreich zu analysieren. Darüber hinaus wird der Einsatz von genetischen Markern zur Selektion neuer potentiell resistenter Züchtungslinien untersucht.

2 Literaturübersicht

2.1 Weizen als konventionelle und biologische Kulturpflanze

Trotz der großen Vielfalt an Pflanzenarten reduziert sich die menschliche Ernährung auf ein paar wenige wichtige Kulturpflanzen. Unter den rund 30.000 essbaren Pflanzenarten befinden sich nur knapp ein Dutzend Nahrungspflanzen, die die Welt ernähren. Fünf davon – die sogenannten *Big Five* – ernähren 75% der Bevölkerung auf dieser Welt. Dabei handelt es sich um Weizen, Mais, Reis, Sojabohne und Hirse. Rund ein Drittel der weltweiten Getreideanbauflächen wird mit Weizen bepflanzt, welcher somit neben Mais und Reis eine der drei wichtigsten Kulturarten darstellt (Miedaner, 2014).

Wie auch die anderen Getreidearten gehört Weizen aus der Gattung *Triticum* L. zu den Süßgräsern, auch Poaceae genannt. Da die Gräser ein sehr verzweigtes, tiefes Wurzelwerk besitzen und sich trotz ihres dünnen Halmes zäh unter Windeinfluss verbiegen können, ist Weizen eine verbreitete und erfolgreiche Kulturpflanze geworden. Ein weiterer großer Vorteil, den der Weizen mit sich bringt, ist die Fähigkeit der jahrelangen Haltbarkeit, sofern nicht Schädlinge oder Feuchtigkeit das Erntegut verderben lassen. Durch seine einfache Verwertbarkeit und Lagerfähigkeit bietet der Weizen den Menschen schon über Jahrtausende eine vitamin-, stärke-, und mineralstoffreiche Nahrungsquelle (Miedaner, 2014). Weizen ist ein unentbehrliches Produkt für die Ernährungssicherheit. Ein Fünftel der täglichen Protein- und Kalorienaufnahme erfolgt über Weizen. Weltweit gehen 71% der gesamten Weizenproduktion in die menschliche Ernährung und 20% in die Herstellung von Tierfuttermitteln. Weitere 2-3% sind Vorprodukte für die industrielle Nutzung. Eine weitere Stärke der Pflanze ist, dass sie in einem weiten Spektrum von unterschiedlichen geografischen Regionen und klimatischen Bedingungen angebaut werden kann (Shiferaw et al., 2013).

Aus kultiviertem Emmer (BBAA) und *Aegilops tauschii* (DD) entstand durch eine Hybridisierung vor 9.000 bis 8.000 Jahren der heute bekannte hexaploide Weichweizen (BBAADD). Diese Hybridisierung lief vermutlich in wiederkehrenden, unabhängigen Ereignissen zwischen den Kreuzungspartnern eines tetraploiden Weizens ab. Der tetraploide Weizen wechselte wahrscheinlich zwischen

geschälten und ungeschälten Varianten, so lässt sich heute die Entwicklung der hexaploiden geschälten (z.B. Dinkel) und der hexaploiden ungeschälten Formen (z.B. Weichenweizen) erklären (Miedaner, 2014). Eine intensivere Form der Züchtung bei Weichweizen (*Triticum aestivum* L.) begann vor etwa 100 Jahren. Dabei lag der Fokus auf der Ertragssteigerung, der Entwicklung von Resistenzen gegenüber Krankheiten sowie der Erhöhung der Backqualität. Auch die Entwicklung der Winterformen steigerte maßgeblich die Bedeutung des Weichweizens. Dadurch ist der Weichweizen heute die wichtigste Weizenart weltweit mit einem Anteil von 95% an der gesamten Produktion. Die restlichen 5% deckt Hartweizen zur Herstellung von Teigwaren ab (Shewry, 2009). Weizen lässt sich in Winterweizen und Sommerweizen einteilen. Der Unterschied liegt darin, ob eine Vernalisation erfolgt (Winterweizen) oder nicht (Sommerweizen). Winterweizen benötigt eine längere Kälteperiode, um die Blühindikation auszulösen. Im europäischen Raum dominiert der Anbau von Winterweizen im Gegensatz zu Sommerweizen, da wesentlich höhere Erträge erzielt werden können und die Gefahr von Frostschäden deutlich geringer ist (Miedaner, 2014).

Neben dem konventionellen Anbau stellt Weizen auch für die ökologische Produktion eine interessante Kulturart dar. Generell erhöht sich der Anteil ökologisch wirtschaftender Betriebe in Österreich wie auch in Deutschland jährlich. 2020 lag die Anzahl der von der INVEKOS-Datenbank erfassten Biobetriebe in Österreich bei 24.479, was einen Anstieg von 22,7% im Vergleich zum Vorjahr darstellt. Die Biobetriebe bewirtschaften mit 679.912 ha 26,5% der gesamten landwirtschaftlichen Fläche Österreichs. Besonders bei den Ackerflächen lässt sich ein beträchtlicher Anstieg erkennen. 2020 lag der Anteil der ökologisch bewirtschafteten Ackerflächen bei 20,8%, verglichen mit 13,6% in 2010. Die am stärksten steigende Biokulturart mit dem größten Flächenanteil ist dabei der Weichweizen mit 41.772 ha (BMLRT, 2021). In Deutschland wurden 2018 mit 1,52 Millionen ha 9,1% der landwirtschaftlichen Fläche ökologisch bewirtschaftet. Die Anbaufläche für Bioweizen im Jahr 2018 betrug 82.000 ha. Ein Vergleich der Erträge zwischen biologischen und konventionellen Betrieben zeigt jedoch, dass beim ökologischen Weizenanbau im Schnitt 49% weniger geerntet wird (BMEL, 2019).

2.2 Steinbrand – eine Gefahr für die globale Weizenproduktion

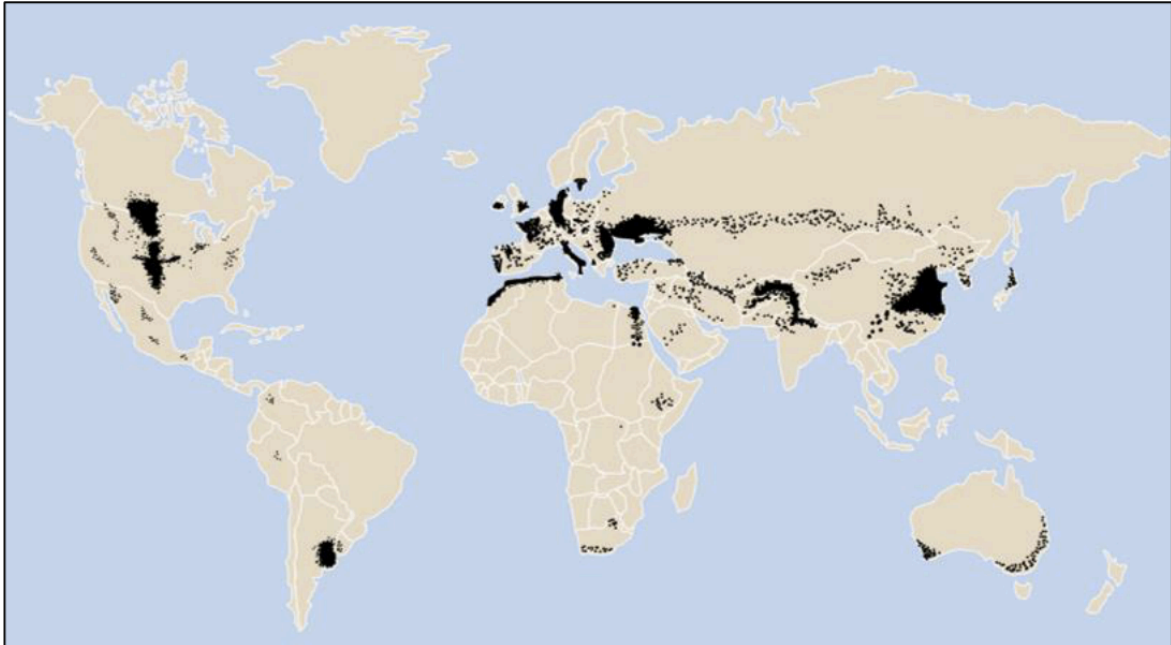


Abbildung 1: Weltweite Verbreitung von Weizensteinbrand (Saari & Mamluk, 1996).

Der gewöhnliche Steinbrand gehört zu den gravierendsten Pflanzenkrankheiten im Weizenanbau, ist weltweit verbreitet und sorgt für enorme wirtschaftliche Schäden. Man geht davon aus, dass der heute bekannte Steinbrand bereits mit Beginn des Weizenanbaus präsent war. Vermutet wird, dass diese Krankheit und deren Erreger aus der gleichen Region wie der Weizen und dessen Vorfahren im fruchtbaren Halbmond stammen. Im dritten Jahrhundert vor Christus wurden erstmals Berichte über die Pilzkrankheit verfasst, und bereits in diesem Zusammenhang wurde der Steinbrand als allgegenwärtig beschrieben (Gaudet & Menzies, 2012). Von der Region des ersten Erscheinens verteilten sich infizierte Samen in alle Welt, wodurch die Pflanzenkrankheit heute in allen Weizenanbaugebieten bekannt ist (*Abbildung 1*). Erst mit der Verbreitung von Fungiziden, die sowohl gegen bodenbürtige und auch samenbürtige Pilzsporen effektiv waren, verringerte sich das Auftreten dieser Krankheit (Hoffmann, 1982 & Goates, 1996).

Die Entstehung des gewöhnlichen Steinbrands wird von zwei sehr ähnlichen Pilzarten verursacht, die zur Gruppe der Basidiomyceten gehören: *Tilletia caries* (D.C.) Tul. & C. Tul. (Syn. *T. tritici* (Bjerk.) G. Winter) und *Tilletia laevis* J.G. Kühn (Syn. *T. foetida* (Wallr.) Liro). *Tilletia controversa* ist mit den zwei Erstgenannten eng verwandt und der Auslöser des sogenannten Zwergsteinbrands. *T. caries* und

T. laevis sowie *T. controversa* können dabei als Varietäten derselben Art angesehen werden (Matanguihan et al., 2011). Die zwei Erregertypen des gewöhnlichen Steinbrands sind zwar morphologisch unterschiedlich, jedoch bezüglich Lebenszyklus, Keimungsvoraussetzungen und Krankheitssymptomen ähnlich. Während die Wände der Teliosporen von *T. caries* netzartig sind, sind jene von *T. laevis* glatt (Matanguihan et al., 2011). Trotz Unterschieden in der Ätiologie und Sporenmorphologie besitzen beide Erreger einen ähnlichen Infektionsverlauf und gleichartige Bekämpfungsmethoden (Gordon et al., 2020). Bei einem Befall mit *Tilletia* spp. dringen Pilzhyphen über die Zwischenräume der Epidermis-Zellen in die Koleoptile eines jungen Keimlings ein und setzen als Myzel ihr Wachstum fort, bis das Apikalmeristem im Vegetationskegel erreicht ist (Hoffmann, 1982; Mathre, 2000). Während des Wachstumszyklus des Pilzes entstehen in den Ähren befallener Pflanzen sogenannte Brandbutten. Diese haben eine körnerähnliche Form und enthalten etwa 4 Millionen Sporen pro Butte (Wächter et al., 2007). Optisch lassen sich diese leicht durch die dunkle Farbe der Teliosporen in den Brandbutten erkennen (*Abbildung 2*).

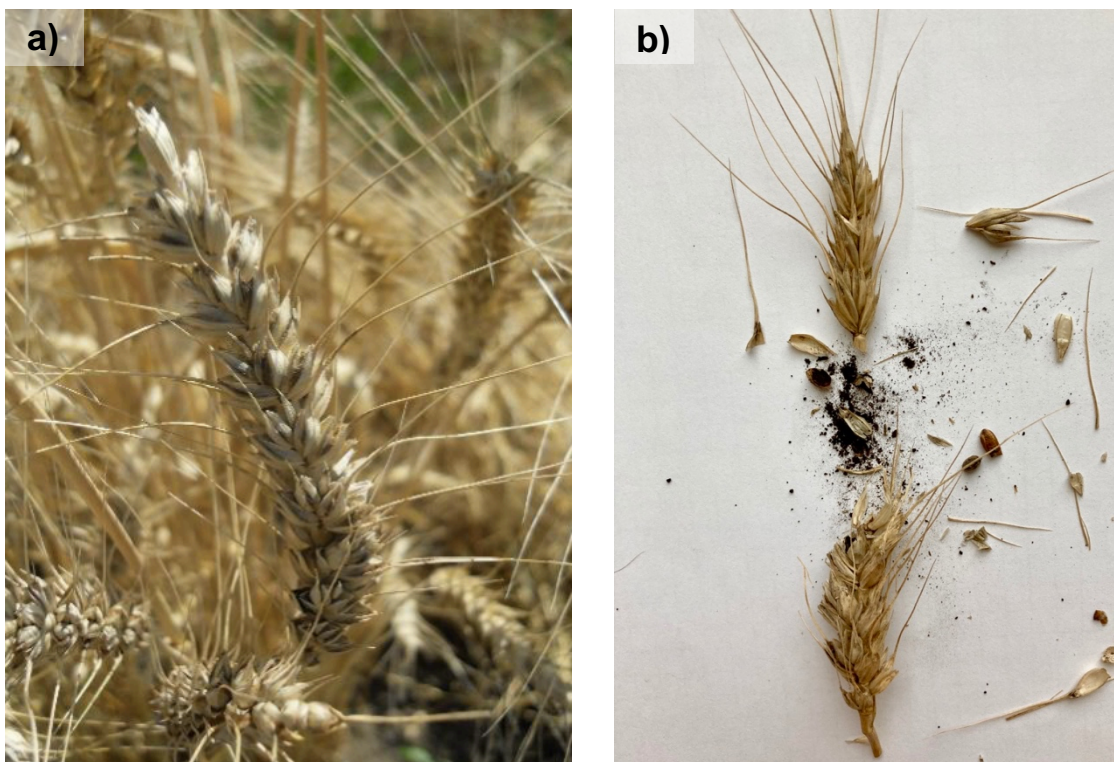


Abbildung 2: Gewöhnlicher Steinbrand bei Weizen: a) Brandbutten in der Ähre am Feld (Hagenguth, 2016) und b) Aufgebrochene Brandbutten im Labor.

Eine Bodentemperatur zwischen 5°C und 10°C ist für eine Infektion ideal. Die Teliosporen keimen im Boden oder auf dem Saatgut aus und bilden Hyphen, die

vor dem Auflaufen die Koleoptilen infizieren. Ein Erkennungsmerkmal für den Steinbrand im Bestand sind bläulich grün gefärbte Ähren. Des Weiteren sind die Antheren gespreizt und verkümmert und können somit nicht aus den Spelzen austreten (Matanguihan et al., 2011). Spieß et al. (2015) empfehlen eine Bestandskontrolle am Feld zur Getreideblüte, da sich zu dieser Zeit die Fruchtanlage grün gefärbt und vergrößert zeigt.

Beim Zwergsteinbrand durch den Erreger *Tilletia controversa* bilden sich – wie beim gewöhnlichen Steinbrand – Brandbutten, die im Inneren Sporen enthalten. Die Sporen des Zwergsteinbrandes können aber bis zu 10 Jahren im Boden überdauern (Goates, 1996). Die Biologie ist der des gewöhnlichen Steinbrands sehr ähnlich, die Keimung der Sporen ist beim Zwergsteinbrand jedoch lichtinduziert und benötigt somit länger als beim Weizensteinbrand. Die Infektion mit Zwergsteinbrand erfolgt darüber hinaus nicht über am Samenkorn anhaftende Sporen, sondern bodenbürtig über keimende Brandsporen in der Nähe des Saatguts. Daher ist eine Bekämpfung nur mit systemischen Behandlungsmitteln möglich (Wächter et al., 2007). Optisch ist der Zwergsteinbrand an dem namensgebenden Zwergwuchs einer befallenen Weizenpflanze zu erkennen. Er tritt eher in höheren Lagen und bei schneereichen Wintern auf (Spieß et al., 2015). Ein Unterschied besteht außerdem darin, dass der Krankheitserreger den im Herbst gesäten Weizen befällt. Für die Keimung der Teliosporen auf der Bodenoberfläche wird eine mehrmonatige Schneebedeckung benötigt (Gordon et al., 2020).

Das Problem an der Bildung von Brandbutten bei Zwergsteinbrand oder gewöhnlichem Steinbrand ist, dass diese bei der Feldbearbeitung oder Ernte leicht aufbrechen. Dadurch werden die Teliosporen freigesetzt und der Infektionszyklus weiter fortsetzen, indem Saatgut und Boden kontaminieren werden. Wird das befallene Erntegut wieder ausgesät, keimen die Brandsporen von *Tilletia* spp. gleichzeitig mit den Keimlingen der Weizenpflanzen aus (Wächter et al., 2007). Bereits bei einer Kontamination von 0,1 Volumenprozent des Ernteguts erzeugt der Steinbrand durch die Bildung von Trimethylamin einen intensiven fischigen Geruch. Dies macht die die Weiterverarbeitung von befallenem Getreide unmöglich (Matanguihan et al., 2011).

Ab Mitte des 20. Jahrhunderts verlor der Steinbrand immer mehr an Bedeutsamkeit, da durch die regelmäßige Anwendung von chemischen Beizmitteln im konventionellen Getreidebau keine nennenswerten Schäden durch den Befall von Brandpilzen mehr aufgetreten sind. Chemische Behandlungen sind sehr effektiv für die Bekämpfung, im ökologischen Landbau aber nicht zugelassen (Weinhappel & Riepl, 2013). Vorwiegend im Norden und Westen Europas nimmt die Anzahl der landwirtschaftlichen Betriebe mit ökologischen und nachhaltigen Anbausystemen jedoch zu (Matanguihan et al., 2011). In den letzten zehn bis 15 Jahren hat gerade die Ausbreitung des ökologischen Landbaus wieder steigende Steinbrandinfektionen zur Folge. Die Verwendung von Nachbausaatgut ist ein Hauptgrund für die teils unkontrollierte Ausbreitung der Pflanzenkrankheit im ökologischen Landbau. Die geringe Schadschwelle sorgt bei einem Befall für massive Qualitäts- und Ertragseinbußen (Weinhappel & Riepl, 2013).

Vor 2004 durfte konventionell erzeugtes Saatgut für den biologischen Anbau verwendet werden, sofern die Sorten keinen transgenen Ursprung hatten und nach der Ernte nicht mit Fungiziden behandelt wurden. Doch mit der Verordnung (EG) Nr. 1452/2003, die im Januar 2004 eingeführt wurde, darf im ökologischen Landbau nur Pflanzenmaterial verwendet werden, welches auch unter ökologischen Bedingungen erzeugt wurde. Somit ist es entscheidend, dass das Saat- und Pflanzengut von hoher Qualität und frei von Krankheitserregern ist (Matanguihan et al., 2011). Neben der Behandlung mit chemischen Beizmitteln stehen einige Bewirtschaftungsmaßnahmen zur Verfügung, durch die die Keimung und Verbreitung von Teliosporen verringert werden kann. Zum einen sollte Saatgut mit einer geringeren Saattiefe von 4 cm statt 7 cm angebaut werden, da ein tieferes Ablegen günstigere Bedingungen für eine Infektion schafft. Auch der Termin für die Aussaat ist ein entscheidender Faktor. Winterweizen sollte möglichst früh und Sommerweizen möglichst spät angebaut werden, um die optimale Bodentemperatur für die Keimung der Teliosporen zu umgehen (Goates, 1996). Entscheidend ist außerdem die Qualität des Saatguts. Dazu ist eine laufende Kontrolle notwendig und im Falle einer Kontamination die Behandlung mit biologischen oder physikalischen Saatgutbehandlungsmitteln im ökologischen Landbau (Spieß et al., 2015). Eine alternative Saatgutbehandlung für die biologische Weizenproduktion ist die Behandlung des Getreides mit heißem

Wasser. Damit ist es möglich, Krankheitserreger und im Speziellen auch Steinbrand zu bekämpfen. Der Vorgang der Heißwasserbehandlung und der anschließenden Rücktrocknung ist jedoch sehr kostenintensiv und somit keine ideale Lösung (Matanguihan et al., 2011). Zu beachten ist auch, dass wilde Gräser, die an den Feldrändern wachsen, Wirte für den Steinbrand sein können. Durch regelmäßiges Mähen kann die Gefahr einer Übertragung verringert werden. Falls dennoch eine Infektion von Steinbrand auftritt, wird von Spieß et al. (2015) eine drei- bis vierjährige Anbaupause empfohlen.

Die am häufigsten eingesetzte Maßnahme gegen Steinbrand im ökologischen Anbau ist das Öko-Richtlinien-konforme Beizen von Saatgut. Derzeit können dafür das in Deutschland registrierte Pflanzenstärkungsmittel TILLECUR® auf Senfmehlbasis und das in der EU zugelassene Pflanzenschutzmittel CERALL® eingesetzt werden (Spieß et al., 2015). Spieß et al. (2015) beschreiben dies als die aktuell effektivste direkte Bekämpfung von Steinbrand. Mit der biologischen Saatgutbehandlung lässt sich das Problem kurzfristig lösen, auf lange Sicht findet jedoch keine Ursachenbekämpfung statt. Die ökologische Beizung kann daher lediglich als Übergangslösung angesehen werden, bis resistente Weizensorten erhältlich sind. Da der Steinbrand durch chemische Saatgutbehandlungsmittel sehr gut kontrolliert werden konnte, wurde die Selektion auf Resistenzen in der Weizenzüchtung der letzten Jahrzehnte jedoch vernachlässigt. Sowohl durch die Zunahme der ökologischen Landwirtschaft, als auch durch die generellen Bestrebungen, nachhaltige Produktionsmethoden zu schaffen, hat die Entwicklung von Resistenzen wieder an Interesse gewonnen (Wang et al., 2019). Durch einige Erfolge in der Bio-Züchtung gewinnt der Anbau von resistenten Sorten nun wieder mehr an Bedeutung. Die ökologische Saatgutbehandlung und die Verwendung von resistenten Sorten werden als eine gute Möglichkeit angesehen, den Steinbrand im ökologischen Landbau einzudämmen. Gleichzeitig gilt die Schaffung von Resistenzen als die nachhaltigste Form zur Kontrolle der Pilzkrankheit (Spieß et al., 2015).

2.3 Die Rolle der markergestützten Selektion in der Pflanzenzüchtung

Die grundlegende Methodik der Pflanzenzüchtung ist so alt wie die Landwirtschaft selbst. Neue Variationen von domestizierten Nutzpflanzen, die zunächst nur

spontan aufgetreten sind, werden anhand ihres Phänotyps für die Kultivierung in der nächsten Anbauperiode selektiert (Becker, 2019; Ben-Ari & Lavi, 2012). Die Identifizierung gewünschter Merkmale rein anhand von äußerlich erkennbaren Eigenschaften ist jedoch oftmals zeitaufwendig und nicht eindeutig, weshalb mit der Entwicklung der Molekularbiologie neue Methoden zur Analyse von Variationen auf molekularer Ebene geschaffen wurden. Die Untersuchung des Genotyps eines Organismus basiert dabei auf Veränderungen in Abschnitten der Desoxyribonukleinsäure (DNA) und den sich daraus ergebenden Variationen des Phänotyps (Ben-Ari & Lavi, 2012; Xu, 2010). Um ein Merkmal auf Basis des Genotyps selektieren zu können, wurde in den 1980er Jahren das Konzept der markergestützten Selektion (MAS) entwickelt (Ben-Ari & Lavi, 2012). Nach diesem Prinzip erfolgt die Selektion des Phänotyps eines Individuum anhand des Genotyps eines genetischen Markers. Ein solcher Marker bezeichnet eine DNA-Sequenz, die nicht mit der Sequenz des zu selektierenden Gens oder Genabschnitts übereinstimmt, sich jedoch in der Nähe des Ziel-Gens befinden muss und gemeinsam mit diesem vererbt wird (Becker, 2019). Alle verwendeten molekularen Marker müssen dabei in ihren DNA-Sequenzen einen Polymorphismus zeigen, um Unterschiede zwischen verschiedenen Genotypen sichtbar machen zu können (Xu, 2010). Concibido et al. (1995) beschrieben eine der ersten praktischen Anwendungen dieser Methode in kommerziellen Züchtungsprogrammen von Sojabohnen (*Glycine max* L.), die Resistenzen gegen die Sojabohnenzystennematode (*Heterodera glycines* I.) aufweisen.

Die Vorteile der indirekten Selektion auf Basis des Genotyps sind vielfältig und haben zur weltweiten Verbreitung dieser Methode in der Pflanzenzüchtung beigetragen. Zunächst ist die Selektion mittels DNA-Markern sehr viel effizienter und dadurch kostengünstiger. So kann im Vergleich zur phänotypischen Auswahl mithilfe der MAS bereits in früheren Wachstumsstadien selektiert werden, was die Anzahl an zu untersuchenden Individuen minimiert und dadurch Kosten senkt (Ben-Ari & Lavi, 2012). Besonders für die Züchtung von Steinbrand- und Zwergsteinbrand-resistenten Weizenpflanzen hat die markergestützte Selektion hohe Relevanz, da sich eine Infektion phänotypisch erst sehr spät zum Zeitpunkt des Ährenschiebens erkennen lässt (Hallmann & von Tiedemann, 2019). Des Weiteren erhöht der Einsatz von genetischen Markern die Effektivität der

Selektion, da der Einfluss von Umweltfaktoren für die Ausbildung eines gewünschten Merkmals einen großen Einfluss haben kann. So spielt die Bodentemperatur für die Infektion einer Weizenpflanze mit Steinbrand oder Zwergsteinbrand beispielsweise eine große Rolle. Bei der klassischen phänotypischen Selektion kann es daher zu einer falschen Auswahl von potentiell resistenten Individuen kommen, die lediglich aufgrund fehlender Umweltbedingungen keine Infektion aufweisen, jedoch keinen genetischen Resistenzfaktor in sich tragen (Becker, 2019; Matanguihan et al., 2011). Darüber hinaus zeigen nicht resistente Weizenpflanzen oft nur wenige infizierte Ähren oder nur einzelne infizierte Ährchen, was die phänotypische Selektion von resistenten Individuen zusätzlich erschwert (Matanguihan et al., 2011). Außerdem ermöglicht markergestützte Selektion die Kombination mehrerer gewünschter Gene im selben Selektionsschritt (Gen-Pyramidisierung) und erhöht die Genauigkeit bei der Selektion von Merkmalen mit nur geringer Heritabilität (Mehboob-ur-Rahman et al., 2011).

Aktuell verfügbare molekulare Marker für die Züchtung lassen sich danach unterteilen, ob der Nachweis des Marker auf Basis einer Polymerase-Kettenreaktion (PCR) abläuft oder nicht (Ben-Ari & Lavi, 2012). Zu letzterem gehört die *Restriction Fragment Length Polymorphism* (RFLP), die von Botstein et al. (1980) als eine der ersten Marker-Systeme noch vor Aufkommen der PCR entwickelt wurde, heute jedoch kaum noch zum Einsatz kommt (Becker, 2019; Hallmann & von Tiedemann, 2019). Zu Methoden, die PCR-Amplifizierung verwenden, zählen *Amplified Fragment Length Polymorphism* (AFLP), *Random Amplified Polymorphic DNA* (RAPD), *Simple Sequence Repeats* (SSR) – auch Mikrosatelliten genannt – sowie *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP). RAPD wird aufgrund der schwierigen Reproduzierbarkeit von Ergebnissen nur noch sehr selten eingesetzt, AFLP- und SSR-Marker finden für QTL-Analysen Anwendung (Becker, 2019). Die heute am meisten eingesetzten Marker sind SNPs, in der Pflanzenzüchtung ist mittlerweile eine große Anzahl an SNP-Markern für die wichtigsten Kulturpflanzen vorhanden. Ein *Single Nucleotide Polymorphism* (SNP) bezeichnet eine Punktmutation, also die Veränderung eines einzelnen Nukleotids in der Basenabfolge der DNA, die auf beiden Seiten von zwei kurzen, die Mutation flankierenden DNA-Sequenzen umgeben ist (Ben-Ari & Lavi, 2012). Somit bilden

SNPs den vielfältigsten Markertyp, da theoretisch jede Variante einer DNA-Sequenz mittels Marker erkannt und selektiert werden kann (Becker, 2019). Ein System zur markergestützten Selektion mittels SNP bildet das KASP Marker-System. *Kompetitive Allele Specific PCR* (KASP) ist eine Plattform zur Uniplex-Genotypisierung, bei der beide Allel-Varianten eines SNP-Markers mittels einer einzelnen Reaktion gleichzeitig detektiert werden können. Mit Hilfe einer fluoreszierenden Einfärbung können die unterschiedlichen Allele im Anschluss sichtbar gemacht und unterschieden werden. Dadurch ermöglicht KASP eine kostengünstige und hocheffiziente Methode zur Analyse des Genotyps eines Individuums (Kaur et al., 2020).

Besonders in der Resistenzzüchtung hat sich die markergestützte Selektion als vielversprechende Methode in vielen Züchtungsprogrammen wichtiger Kulturpflanzen etabliert (Ben-Ari & Lavi, 2012). So wurde auch das Repertoire von Genkarten und Markern zur Schaffung Steinbrand- und Zwergsteinbrand-resistenter Weizensorten in der Vergangenheit stetig erweitert (Goates & Bockelman, 2012; Mourad et al., 2018; Muellner et al., 2020). Hinsichtlich qualitativer Merkmale zur Expression einer spezifischen Resistenz mittels Gen-zu-Gen Interaktion mit dem Krankheitserreger sind aktuell 16 Gene aus Weizen – *Bt1* bis *Bt15* und *BtP* bekannt (Muellner et al., 2021). Von diesen kann aktuell *Bt1*, *Bt4*, *Bt5*, *Bt6*, *Bt7*, *Bt9* und *Bt10* eindeutig ein Locus auf einem Chromosom innerhalb des Weizen-Genoms zugeordnet werden (Matanguihan et al., 2011; Steffan et al., 2017; Wang et al., 2009). Zusätzlich zum Mapping dieser sieben Resistenzfaktoren existieren genetische Marker zur Selektion für die Resistenzgene *Bt8*, *Bt10* und *Bt12* (Muellner et al., 2020). Darüber hinaus sind bis dato 24 *Quantitative Trait Loci* (QTL) auf 13 Chromosomen bekannt, die an der Erzeugung von Resistenzen in Weizenpflanzen als quantitatives und nicht-spezifisches Merkmal beteiligt sind (Becker, 2019; Muellner et al., 2021). Weitere Resistenzgene wurden in nahverwandten Wildgräsern entdeckt (Goates, 1996; Babayants et al., 2006; Galaev et al., 2006).

3 Material und Methodik

3.1 Pflanzenmaterial

Für die genotypische und phänotypische Analyse von potentiell resistentem Winterweizen (*Triticum aestivum* L.) wurden für diesen Versuch sowohl marktgängige Sorten als auch Individuen von neu erzeugten Kreuzungslinien verwendet. Zunächst wurden 40 Weizensorten ausgewählt, die innerhalb des EU-Projekts ECOBREED (www.ecobreed.eu) auf ihre Eignung zur Produktion von biologischem Weizen untersucht werden. Eine Übersicht über alle getesteten Sorten und Informationen zu entsprechenden Sortenzulassungen in der Europäischen Union sind in *Anhang A-1* vermerkt.

Zur Evaluierung von neuem Pflanzenmaterial mit potentieller Steinbrand-Resistenz wurden zusätzlich 42 Züchtungslinien getestet, die an der Universität für Bodenkultur Wien (BOKU, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Institut für Pflanzenzüchtung, Tulln, Österreich) seit 2017 entwickelt wurden. Diese neuen Linien sind durch eine künstliche multiparentale Kreuzung von 17 verschiedenen Eltern entstanden, wovon sieben bekanntermaßen Resistenzfaktoren gegen Steinbrand in sich tragen. Unter den sieben eingekreuzten Resistenzträgern befinden sich die vier zugelassenen Sorten *Genius*, *Spontan*, *Tillstop* und *Tommi*, sowie die drei Zuchtlinien *S5.58*, *P106.24* und *P101.30*. Für jede Zuchtlinie wurden mindestens drei, maximal fünf Resistenzträger in jeden der zehn unterschiedlichen Stammbäume eingekreuzt. Die vollständige Abstammung aller 42 Linien ist in *Anhang A-2* dargestellt.

Abbildung 3 zeigt einen Stammbaum, der das Kreuzungs- und Selektionsschema für die Züchtungslinie *BTX516EX01-6K* exemplarisch für alle 42 neuen Linien der insgesamt zehn unterschiedlichen Abstammungen darstellt. Die F₁-Generation aus der initialen Kreuzung von 2017 wurde durch Drei-Wege-Kreuzung mit einem neuen Elternteil gekreuzt, um 2018 eine BC₁F₁-Generation zu erhalten, die mittels markergestützter Selektion auf Individuen selektiert wurde, deren Genotyp mindestens einen heterozygoten Resistenzfaktor aufweist. Positiv selektiertes Material wurde mit Individuen einer weiteren BC₁F₁-Generation mit variierendem Stammbaum, aber gleichem Kreuzungsschema gepaart. Die daraus resultierende

BC₂F₁-Generation wurde 2019 erneut markergestützt selektiert, in diesem Schritt auf ein homozygotes Resistenzmerkmal. Es folgten zwei Selbstungsschritte, um 2020 die BC₂F₂-Generation und 2021 die BC₂F₃-Generation zu erhalten. Die BC₂F₃-Generation wurde herangezogen, um 2021 phänotypisch den Befall nach einer künstlichen Steinbrand-Infektion zu ermitteln.

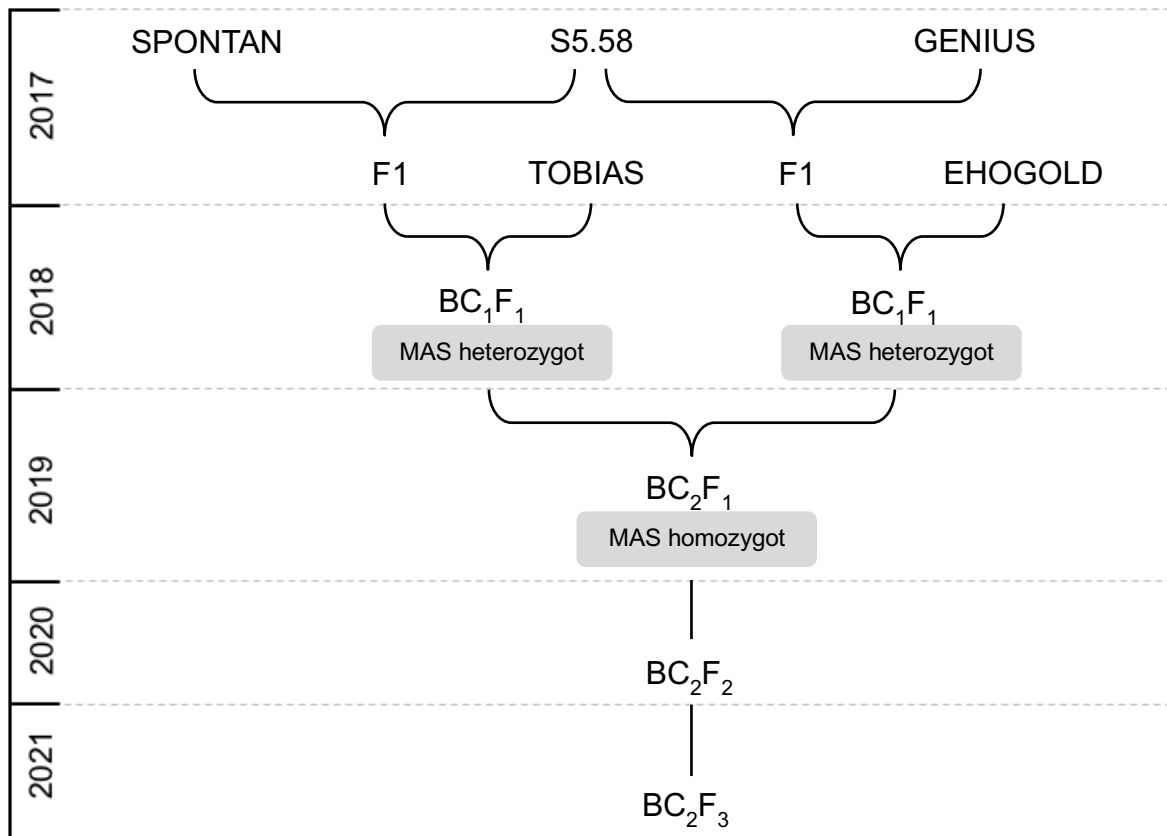


Abbildung 3: Exemplarischer Stammbaum für BTX516EX01-6K.

3.2 Genotypisierung der neuen Züchtungslinien mittels KASP Marker

Zur Genotypisierung der 42 neuen Züchtungslinien wurde für jedes der zehn Abstammungsschemata eine Analyse mit verschiedenen KASP Markern durchgeführt, die von Muellner et al. (2020) und Muellner et al. (2021) entwickelt wurden. Es wurden dabei KASP Marker für fünf verschiedene QTL verwendet, die alle unterschiedliche, nicht-spezifische Resistenzfaktoren auf verschiedenen Chromosomen darstellen (*Tabelle 1*). Die Marker-Analyse wurde mit Pflanzenmaterial aus Blättern durchgeführt, die im Herbst 2020 gesammelt wurden. Von den 42 getesteten Linien war bei 27 der Nachweis eines oder mehrerer QTL möglich. Bei 15 Linien konnte mit den verwendeten Markern keines der getesteten QTL gefunden werden.

Tabelle 1: Quantitative Trait Loci (QTL), für deren Nachweis KASP Marker verwendet wurden.

QTL	Resistenzfaktor
<i>QBt.ifa-1AL</i>	major effect QTL am langen Arm von Chromosom 1A, repräsentiert möglicherweise das <i>Bt3</i> -Gen **
<i>QBt.ifa-1BS</i>	major effect QTL am fernen Ende des kurzen Arms von Chromosom 1B **
<i>QBt.ifa-4B</i>	minor effect QTL am Chromosom 4B *
<i>QBt.ifa-7AL</i>	moderate effect QTL in der Nähe des Telomers am langen Arm vom Chromosom 7A **
<i>QBt.ifa-7DS/Bt12</i>	major effect QTL am fernen Ende des kurzen Arms von Chromosom 7D, höchstwahrscheinlich verbunden mit dem <i>Bt12</i> -Gen *

* (Muellner et al., 2020), ** (Muellner et al., 2021)

3.3 Feldexperiment

3.3.1 Inokulation und Aussaat

Für die künstliche Infizierung von Keimmaterial wurden Teliosporen (*T. caries*) verwendet, die im Vorjahr aus infizierten Weizenpflanzen der Sorte *Tilliko* (Cultivari Getreidezüchtungsforschung Darzau gGmbH) in Oberösterreich gewonnen wurden. Das aus diesen Sporen erhaltene Isolat zeichnet sich dabei durch eine im Vergleich mit anderen Isolaten besonders starke Aggressivität hinsichtlich der Infektionsstärke gegen Weizenpflanzen aus (Ritzer et al., 2021). Die Inokulation wurde nach dem Protokoll von Goates (1996) mit Hilfe einer Methylcellulose-Lösung als Bindemittel durchgeführt, sodass in finaler Konzentration 0,75 g Sporen pro 100 g Samenkörner auf das Saatgut aufgetragen wurden.

Der Steinbrand-Feldversuch fand auf den Versuchsfelder der Universität für Bodenkultur Wien, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Institut für Pflanzenzüchtung, Tulln, Österreich (48° 20' N und 16° 3' O) statt. Jeder der 82 untersuchten Genotypen wurde in einer 0,5 m² großen Versuchsparzelle getestet, die aus je zwei Reihen mit einer Länge von 1,5 m bestehen und 17 cm voneinander entfernt sind. Eine jede Reihe enthält ungefähr 70 Pflanzen. Die Anlage der Parzellen erfolgte im November 2020 durch die Aussaat von jeweils 6 g mit Steinbrand-Sporen inokulierten Samen (Muellner et al., 2021). Insgesamt wurden mit den 82 verschiedenen Genotypen 90 Parzellen angelegt, da die Sorten *Butaro*, *Deloris*, *Graziaro*, *Spontan*, *UI SRG*, *Aristaro*, *Rübezahl* und *Blickfang* zum Test auf Reproduzierbarkeit der Ergebnisse in zweifacher Wiederholung angepflanzt wurden.

3.3.2 Evaluierung des Befalls

Zunächst wurden die Versuchspartzellen noch vor Erntereife (*Abbildung 4a*) am 1. Juli 2021 phänotypisch auf einen Befall bonitiert. Dazu wurden in jeder der beiden Reihen eines Genotyps 50 Einzelähren überprüft, sodass insgesamt 100 Ähren getestet wurden. Eine jede Ähre wurde schräg angeschnitten und auf einen Befall von mit Sporen gefüllten schwarzen Brandbutten hin untersucht (*Abbildung 4b*). Ein Befall wurde dann gewertet, wenn mindestens ein infiziertes Ährchen pro Ähre gefunden werden konnte. Die Anzahl der infizierten Ähren pro Sorte bzw. Linie wurde notiert.

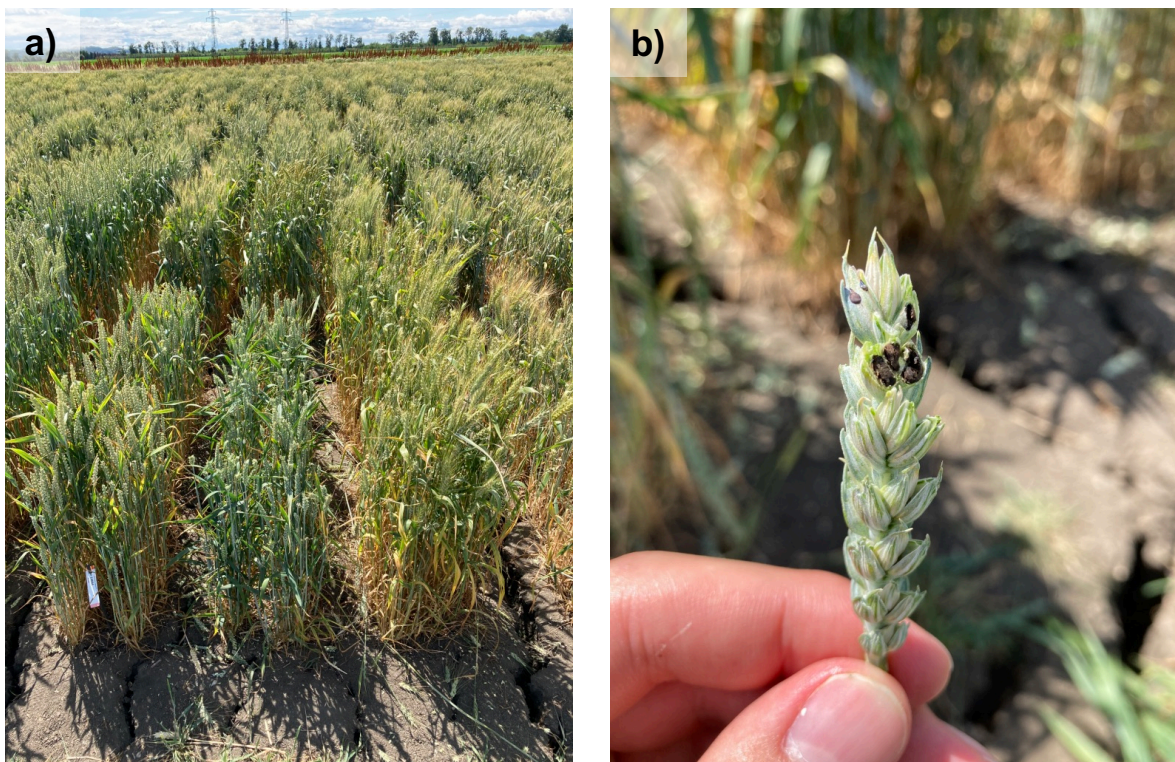


Abbildung 4: Steinbrandversuch 2021 in Tulln: a) Ansicht der Versuchspartzellen und b) Bonitierung einer befallenen Ähre.

Am 22. Juli 2021 wurden zusätzlich zu den bereits bonitierten Ähren 50 weitere, zufällig ausgewählte Ähren für jede getestete Sorte oder Züchtungslinie abgeschnitten und gesammelt. Anhand dieser Proben wurde eine genauere Untersuchung des Infektionsgeschehens in einer jeden Ähre vorgenommen (*Abbildung 5a*). Dafür wurde jede Ähre zunächst abgewogen und anschließend die gesunden Körner sowie Brandbutten vorsichtig herausgelöst und von Spelzen, Grannen und Ährenspindel befreit (*Abbildung 5b*). Die gesunden Samen und Brandbutten jeder Ähre wurden gezählt und separat abgewogen. Bei 57 der 90

Sorten bzw. Linien wurde zusätzlich erfasst, ob die gesammelten Ähren begrannt oder unbegrannt waren.



Abbildung 5: Detailanalyse befallener Weizenähren: a) Untersuchungsaufbau und b) Trennung in gesunde Körner (oben) und Brandbutten (unten).

3.4 Statistische Analyse phänotypischer Daten

Alle Grafiken und statistischen Berechnungen wurden in R (Version 3.6.2, 2019) und Microsoft® Excel (Version 16.29, 2019) erstellt.

Für den Vergleich der Infektionsrate aus Feld- und Labormessung wurde ein Zweistichproben-*t*-Test für unabhängige Stichproben mit ungleicher Varianz durchgeführt. Damit wurde ermittelt, ob sich über alle Sorten bzw. Züchtungslinien ein signifikanter Unterschied zwischen dem Mittelwert der Feldmessung und dem Mittelwert der Labormessung ergibt. Zusätzlich wurde zum Vergleich der Mittelwerte ein Korrelationskoeffizient nach Pearson berechnet.

Außerdem wurde ein Pearson-Korrelationskoeffizient zwischen dem Anteil infizierter Ähren und dem Anteil infizierter Samen, sowie zwischen dem Anteil infizierter Ähren und dem Anteil unbegrannter Ähren einer jeden Sorte bzw. Züchtungslinie ermittelt.

4 Ergebnisse und Diskussion

4.1 Vergleich der Infektionszahlen aus Feld- und Labormessung

Aufgrund der separaten Ermittlung der Infektionsraten am Feld und im Labor ist eine Gegenüberstellung der Ergebnisse möglich, die zu potentiell unterschiedlichen Befallsraten je nach Methode der Erfassung führen kann. Der Test am Feld, wobei mittels Längsschnitt der Anteil an infizierten Ähren ermittelt wird, stellt die übliche Vorgehensweise zur Untersuchung einer Steinbrand-Infektion bei Weizenpflanzen dar. Ein Überblick über die Literatur zeigt, dass die Infektionsraten vergangener Steinbrandfeldversuche ausschließlich über die Überprüfung der Ähren erfolgte, wobei ein Befall dann gezählt wurde, wenn mindestens eine Brandbutte identifiziert werden konnte (Dumalaso \acute{v} a et al., 2014; Goates & Bockelman, 2012; Gordon et al., 2020; Madenova et al., 2021; Mourad et al., 2018; Muellner et al., 2021; Muellner et al., 2020; Steffan et al., 2017; Wächter et al., 2007; Wang et al., 2019). Die Überprüfung einzelner Ähren im Labor stellt gegenüber der Felduntersuchung eine genauere Begutachtung dar, da durch das Heraustrennen jedes einzelnen Kornes die Gefahr, dass ein Befall übersehen wird, ausgeschlossen werden kann. *Abbildung 6* zeigt die Gegenüberstellung des Anteils an infizierten Ähren aller 82 getesteter Züchtungslinien und Sorten aus Feld- und Labormessung.

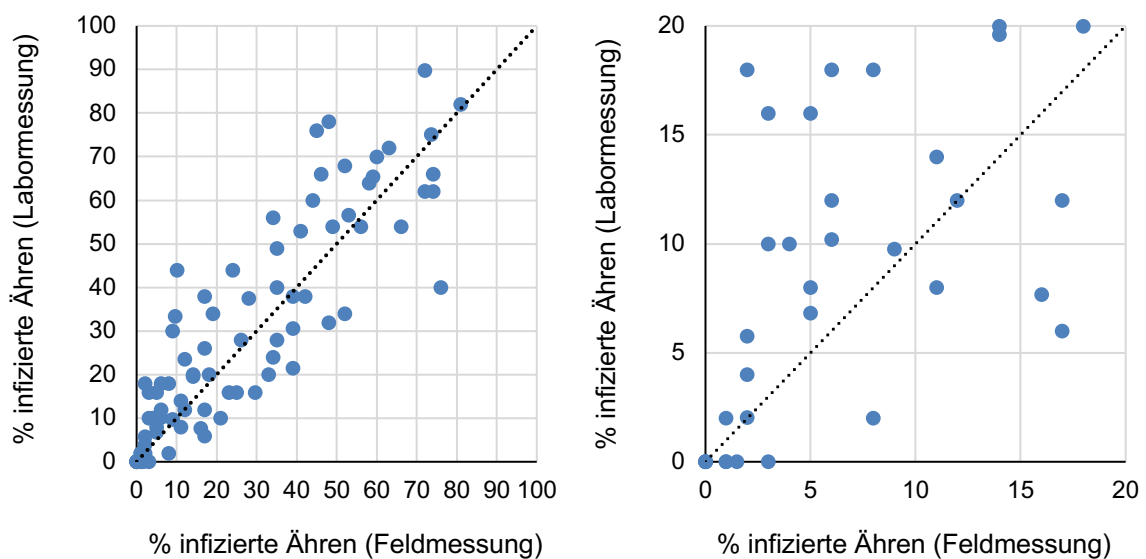


Abbildung 6: Gegenüberstellung des Anteils an infizierten Ähren aus der Feld- oder Labormessung; rechts ein vergrößerter Ausschnitt des Intervalls von 0 bis 20%.

Die Verteilung der Infektionsraten zeigt, dass die Ergebnisse der unterschiedlichen Messmethoden grundsätzlich miteinander korrelieren, jedoch nicht exakt übereinstimmen, was durch einen Pearson-Korrelationskoeffizient von $r = 0,88$ bestätigt wird. Die Ergebnisse der Labormessung ergeben dabei systematisch höhere Befallsraten als die Messungen am Feld. Über alle 90 Parzellen hinweg liegt der Anteil infizierter Ähren aus der Labormessung im Durchschnitt um 3,08% über der Feldmessung. Vor allem im Bereich niedriger Infektionszahlen von null bis 20% (*Abbildung 6*) sind die Abweichungen zwischen Feld- und Labormessung am größten und signifikant. Statistisch abgesichert werden kann diese Differenz mittels *t*-Test der Mittelwerte beider Infektionsraten (*Tabelle 2*).

Tabelle 2: *t*-Test der Mittelwerte aus Feld- und Labormessung für vier Bereiche aus der Feldmessung mit den Infektionsraten 0-10%, 0-20%, 0-50% und 0-100%, sowie den Pearson-Korrelationskoeffizienten r_p .

Infektionsraten (Feldmessung)	Mittelwert Feldmessung	Mittelwert Labormessung	r	p -Wert
$\leq 10\%$	3,86%	9,52%	0,77	0,0068
$\leq 20\%$	7,31%	12,30%	0,64	0,0078
$\leq 50\%$	26,96%	21,95%	0,81	0,0856
$\leq 100\%$	26,96%	30,04%	0,88	0,2094

Für den Bereich der Infektionsraten von null bis 100% liegt der p -Wert zunächst mit 0,2094 über einem Signifikanzniveau von 5%, sodass die Nullhypothese, dass die Mittelwerte beider Messverfahren übereinstimmen, nicht abgelehnt werden kann. Der Mittelwert der Labormessung zeigt zwar eine höhere Befallsrate als in der Feldmessung, statistisch liegt die Differenz jedoch noch im zufälligen Schwankungsbereich. Signifikant unterschiedlich werden die Differenzen der beiden Messungen jedoch, sobald das analysierte Intervall in Richtung niedrigerer Infektionsraten verschoben wird. Der Pearson-Korrelationskoeffizient reduziert sich, ebenso liegen die p -Werte für die Bereiche null bis 10% und null bis 20% mit 0,0068 und 0,0078 unter dem Signifikanzniveau von 5%. Für diese beiden Intervalle ergibt sich bezüglich der Infektionsraten somit ein statistisch signifikanter Unterschied für die beiden Mittelwerte aus Feld- und Labormessung.

Damit kann festgestellt werden, dass vor allem im Bereich niedriger Infektionsraten eine systematische Unterschätzung der tatsächlichen

Steinbrandinfektionen eintritt, wenn die Messung des Befalls am Feld stattfindet. Erklärt werden kann dies durch die Fehleranfälligkeit der Feldmessung. Durch das Anschneiden einzelner Ähren können Infektionen übersehen werden, vor allem, wenn nur wenige Brandbutten enthalten sind. Die Gefahr einer falschen Beurteilung potentiell resistenter Weizenpflanzen steigt somit systematisch, je widerstandsfähiger eine Pflanze ist. Für die Selektion der besten Züchtungslinien oder Sorten eines Steinbrandfeldversuchs empfiehlt es sich daher, den Befall mittels Beurteilung eines jeden einzelnen Kornes zu ermitteln, da somit die Unterschätzung der tatsächlichen Infektionsrate ausgeschlossen werden kann. Schon Fernández et al. (1978) argumentieren außerdem, dass für die Beurteilung einer Resistenz zusätzliche Kriterien neben dem Anteil an infizierten Ähren verwendet werden sollten. Eine Alternative zur händischen Messung, bei der Fehler aufgrund falscher Beurteilungen ausgeschlossen werden können, ist der Nachweis eines *Tilletia*-spezifischen DNA-Segments im Pflanzenmaterial mittels PCR-Amplifizierung (Ren et al., 2021).

4.2 Partierer Befall innerhalb einer infizierten Ähre

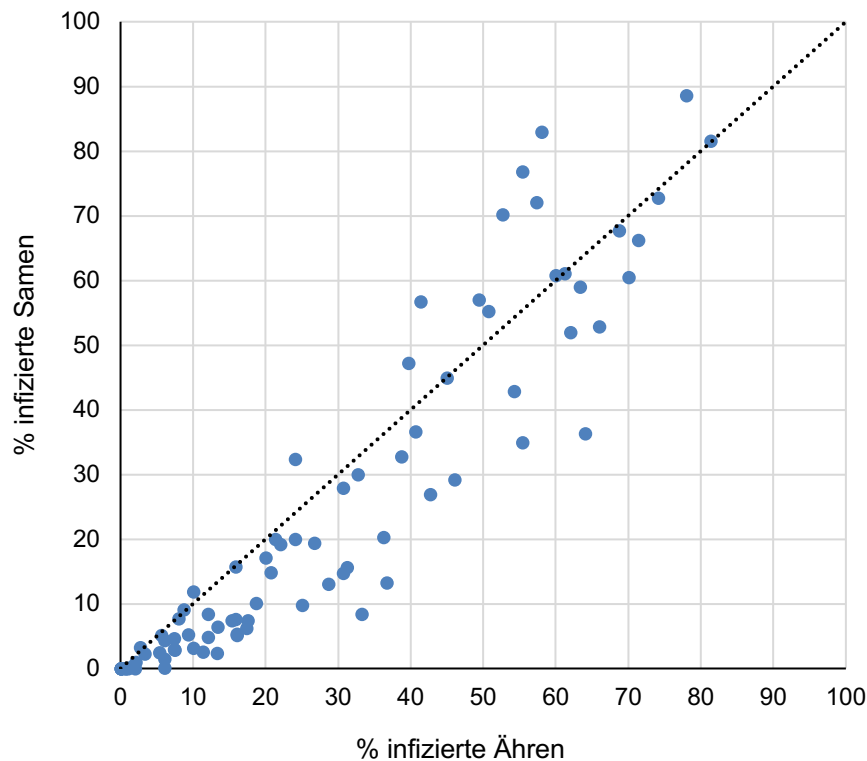


Abbildung 7: Anteil infizierter Ähren im Verhältnis zum Anteil infizierter Samen einer jeden Sorte bzw. Linie.

Durch die Labormessung ist die Ermittlung des exakten Anteils an infizierten Samenkörnern innerhalb einer jeden Ähre möglich. *Abbildung 7* zeigt die Gegenüberstellung des Gesamtanteils infizierter Samen im Verhältnis zum Prozentsatz an infizierten Ähren für jede der 82 untersuchten Sorten und Züchtungslinien. Dabei wird ersichtlich, dass ein eindeutiger Zusammenhang zwischen beiden Befallsraten besteht, der Pearson-Korrelationskoeffizient zwischen den Messungen beträgt $r = 0,933$. Vor allem im Bereich mit geringen Infektionen ist jedoch erkennbar, dass der Anteil infizierter Ähren über dem Anteil an infizierten Samenkörnern liegt. Eine Ähre, die als infiziert gewertet wurde, muss daher nicht vollständig mit infizierten Körnern gefüllt sein, sondern kann neben Brandbutten weiterhin gesunde Samen enthalten. Die partielle Infektion von Ähren tritt über alle 82 Versuchsobjekte hinweg wiederholt auf. Bestätigt werden kann dies durch eine genauere Betrachtung der Infektionszahlen (*Tabelle 3*). Von den insgesamt 4.478 Ähren, die bei der Labormessung detailliert untersucht wurden, weisen 30,17% einen Steinbrandbefall auf. Dabei wurde festgestellt, dass bei jeder der 1.351 infizierten Ähren im Durchschnitt 78,71% der Körner Brandbutten waren, und somit nicht immer eine vollständige Infektion vorlag. Der Anteil

infizierter Ähren, bei denen sich sogar nur maximal 50% der Körner zu Brandbutten entwickelten, liegt bei 22,06%. Dieses Phänomen, bei dem einige Ähren nur eine partielle Infektion der Samenkörner aufweisen, also eine partielle Resistenz ausbilden, ist seit frühen histologischen Untersuchungen von *Tilletia*-Infektionen in Getreidepflanzen bekannt (Fernández et al., 1978; Fischer et al. 2002; Hansen, 1958; Hoffmann, 1982).

Tabelle 3: Infektionszahlen auf Basis der Labormessung.

Anzahl Ähren	Anzahl infizierter Ähren	Anzahl gesunder Ähren
4.478	1.351	3.127
Anteil infizierter Ähren	Ø Anteil der Brandbutten bei einer infizierten Ähre	Anteil infizierter Ähren mit einer Infektion <50%
30,17%	78,71%	22,06%

Verursacht wird die partielle Infektion einer Ähre durch den Mechanismus, der in resistenten Pflanzen eine Infektion unterdrücken kann (Gaudet et al., 2007). So konnte beobachtet werden, dass das primäre Eindringen der Pilzhyphen in die Koleoptile junger Keimlinge sowohl bei resistenten als auch bei anfälligen Pflanzen auftritt, das Wachstum der Pilzfäden bei resistenten Individuen anschließend jedoch verlangsamt wird (Hoffmann, 1982; Mathre, 2000). Im Falle einer Infektion initiieren resistente Pflanzen die Ausschüttung von Sauerstoffradikalen, Stickstoffmonoxid, Ethylen und der Phytohormone Jasmonsäure, Salicylsäure und Abscisinsäure, die mittels Zellsignalisierung den Verteidigungsmechanismus aktivieren. Dieser beinhaltet den programmierten Zelltod an der Infektionsstelle, die Zunahme von Phenylalanin-Ammoniak-Lyase als zentrales Enzym der pflanzlichen Abwehr und die Proteinsynthese von Pathogenese-verwandten Proteine und MYB-Transkriptionsfaktoren (Chen et al., 2021; Gaudet et al., 2007). Als zusätzliche Abwehr können befallene Pflanzen ihre Zellwände durch die Einlagerung von Lignin und Callose verstärken und vor weiterem Eindringen schützen (Gaudet et al., 2007). Durch die Initiierung der pflanzlichen Abwehr kann das weitere Wachstum der Hyphen innerhalb resistenter Pflanzen unterbunden werden. Der Erfolg der Reaktion hängt jedoch davon ab, ob die Pilzfäden den Vegetationskegel eines Seitentriebs erreichen, bevor durch Streckung der Internodien das Längenwachstum weitergeführt wird (Hoffmann,

1982). Hier weicht die individuelle Resistenz einzelner Sorten und Linien aufgrund der unterschiedlichen Resistenzfaktoren verschiedener Genotypen voneinander ab (Wang et al., 2019). Auch variierende Umweltbedingungen haben einen Einfluss auf den Erfolg der pflanzlichen Abwehr gegen *Tilletia*-induzierte Infektionen (Mathre, 2000). Die Anzahl der Hyphen, die nach einer Infektion bis in den Vegetationskegel vor Streckung der Internodien gelangen, entscheidet jedoch wie umfangreich eine Ähre letztendlich infiziert sein wird, da in späteren Wachstumsstadien keine zusätzlichen Abwehrmechanismen mehr aktiviert werden können (Gaudet et al., 2007). So konnten beispielsweise Chen et al. (2021) mittels Konfokalmikroskopie nachweisen, dass sich Hyphen von *T. controversa* in Wurzel- und Blatzellen sowohl von resistenten als auch von anfälligen Weizenpflanzen befinden können, die Pilzfäden aber nicht bis in die Antheren als Teil der Blüte bei sehr resistenten Pflanzen vordringen konnten. Zusätzlich konnten Ren et al. (2021) durch die Untersuchung einer *T. laevis*-Infektion bei Weizen mit Elektronenmikroskopie bestätigen, dass eine variierende Anzahl an Hyphen, die über den Vegetationskegel bis in die Blüte gelangen, unterschiedlich starke Infektionen innerhalb einer Ähre auslöst. Das Ausmaß des Befalls einer Ähre steht somit in direktem Zusammenhang mit der Anzahl an Hyphen, die die pflanzliche Abwehr bis zum Zeitpunkt des Längenwachstums überwinden können. Dass der Anteil infizierter Samenkörner innerhalb der Ähren verschiedener Sorten bzw. Linien dieses Versuchs unterschiedlich ist, liegt somit an der individuellen Fähigkeit, die Ausbreitung der Pilzhyphen über den Vegetationskegel hinaus zu unterbinden (Gaudet et al., 2007; Ren et al., 2021).

4.3 Ergebnis des Sortenvergleichs

Tabelle 4: Ergebnis des Steinbrand-Sortenversuchs 2021 in Tulln, Österreich; Übersicht über die Zulassung der getesteten Sorten in Österreich und Deutschland und die Prüfung im biologischen Anbau.

Infizierte Ähren	$x \leq 5\%$	$5 < x \leq 25\%$	$25 < x \leq 50\%$	$50 < x \leq 75\%$	$75 < x \leq 100\%$
Tulln, Österreich 2021	ARISTARO UI SRG DELORIS	UNITAR SEC261 GENIUS SPONTAN IS LAUDIS HEERUP CREATOR TILLIKO BUTARO	GLOSA PS DOBROMILA URSITA PIZZA VIKI WENDELIN MV KAREJ RÜBEZahl SKAGIT 1209 RED RUSSIAN	ROYAL TILLSTOP BRANDEX TILLEXUS ALESSIO SHERIFF SKAGIT 1109 GRAZIARO WITAL TENGRI TOBIAS EHOGOLD PURINO MV KOLOMPOS BLICKFANG	WIWA ANNIE
Sorten-zulassung * Österreich		SPONTAN TILLIKO		TILLEXUS ALESSIO TOBIAS EHOGOLD	
Sorten-zulassung ** Deutschland	ARISTARO	GENIUS SPONTAN TILLIKO BUTARO	VIKI WENDELIN	ALESSIO SHERIFF GRAZIARO TOBIAS PURINO BLICKFANG	WIWA ANNIE
Prüfung biologischer Anbau * Österreich		TILLIKO		TILLEXUS ALESSIO EHOGOLD	
Prüfung biologischer Anbau ** Deutschland	ARISTARO	GENIUS TILLIKO BUTARO	WENDELIN	ALESSIO GRAZIARO TOBIAS PURINO BLICKFANG	WIWA ANNIE

* AGES Beschreibende Sortenliste (2021), ** BSA Beschreibende Sortenliste (2021)

Das Ergebnis des Steinbrandfeldversuchs zeigt für die Infektionsraten der getesteten Sorten eine Verteilung sowohl über sehr resistente als auch sehr anfällige Weizenpflanzen (*Tabelle 4* und *Anhang B*). Im hochgradig resistenten Bereich unter 5% sind besonders die Sorten *Aristaro* und *UI SRG* hervorzuheben, da bei diesen mittels Feld- und Labormessung keine einzige Infektion nachgewiesen werden konnte. Eine ebenfalls hohe Resistenz weist neben *Deloris* auch *Unitar* mit einer Infektionsrate von 6% im Intervall zwischen 5 und 25% auf.

Die nachgewiesenen Resistenzen von *UI SRG* und *Deloris* stehen dabei in Zusammenhang mit bereits belegten Resistenzen gegen Zwergsteinbrand in vergangenen Untersuchungen (USDA, 2022). Die Mehrzahl der getesteten Sorten befindet sich jedoch im Bereich moderater Resistenz bis hoher Anfälligkeit, da für 64% aller Sorten der Anteil an infizierten Ähren zwischen 25 und 75% liegt. Die höchste Infektionsrate von 81% wurde bei der Sorte *Annie* gemessen.

Neben den Befallsraten zeigt *Tabelle 4* die aktuellen Zulassungen der getesteten Sorten in Österreich und Deutschland sowie eventuell vorhandene Prüfungen unter biologischen Anbaubedingungen im Rahmen der jeweiligen beschreibenden Sortenliste im Jahr 2021. In Österreich ist von den drei resistentesten Sorten dieses Feldversuchs aktuell keine für den Anbau zugelassen. Im Bereich moderater Infektionszahlen stehen die Sorten *Spontan* mit 17,5% und *Tilliko* mit 24% zur Verfügung. Beide Sorten sind im biologischen Getreideanbau in Österreich verbreitet (AGES, 2021). *Tilliko* wird als Qualitätsweizen eingestuft und wurde speziell für den ökologischen Anbau mit dem Fokus auf der Widerstandsfähigkeit gegen saatgutübertragbare Krankheiten mit gleichzeitig hoher Backqualität entwickelt (Cultivari Getreidezüchtungsforschung Darzau, o.J.). Da *Tilliko* neben einem niedrigen Kornertrag auch eine stärkere Anfälligkeit gegen Mehltau und Braunrost sowie eine mäßige Unkrautunterdrückung aufweist, liegt das Hauptaugenmerk der Sorte auf der Resistenz gegen Steinbrand und einem hohen Rohproteingehalt. Im Sortenversuch der AGES zwischen 2018 und 2020 lag der Anteil infizierter Ähren im Schnitt bei 4%, und damit deutlich niedriger als im aktuellen Steinbrandversuch. Auch ist bekannt, dass die Resistenz in *Tilliko* nicht das gesamte *Tilletia*-Rassenspektrum abdeckt (AGES, 2021; Cultivari Getreidezüchtungsforschung Darzau, o.J.). Dies kann mit dem aktuellen Versuch bestätigt werden, da *Tilliko* bei Infektion mit einem aggressiven Isolat einen deutlich stärkeren Befall zeigte. *Spontan* aus der konventionellen Zucht wird ebenfalls als Qualitätsweizen vertrieben und ist vor allem wegen seiner hohen Resistenz gegen Ährenfusarium, Mehltau und Gelbrost attraktiv (Limagrain Field Seeds, o.J.). Der Ertrag von *Spontan* liegt im hohen Bereich deutlich über *Tilliko*, zusätzlich wird ebenfalls eine sehr geringe Anfälligkeit bei vergangenen Steinbrandfeldversuchen beschrieben (AGES, 2021; LfL, 2021). Auch im aktuellen

Versuch zeigt sich eine solide Resistenz, die jedoch wie bei *Tilliko* nicht an die Ergebnisse vergangener Untersuchungen heranreicht.

Alessio, *Tobias* und *Ehogold* spielen im biologischen Getreideanbau in Österreich ebenfalls eine Rolle, *Tillexus* ist weniger verbreitet. Hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber Steinbrand waren *Tobias* und *Tillexus* in vergangenen Versuchen mittel bis gering anfällig, während *Ehogold* und *Allesio* bereits hohe Infektionsraten über 65% gezeigt haben (AGES, 2021; LfL, 2021). Im aktuellen Versuch zeigen alle vier Sorten hohe Befallszahlen zwischen 55 und 69%, weshalb auch die Eignung von *Tillexus* und *Tobias* bei aggressiven *T. caries*-Rassen mangelhaft ist.

In Deutschland stehen im Bereich solider bis exzellenter Resistenz zusätzlich die Sorten *Aristaro*, *Genius* und *Butaro* zur Verfügung (BSA, 2021). Alle drei Sorten zeigten in vergangenen Untersuchungen sehr geringe Anfälligkeit (LfL, 2021; Karalus, 2020). Dasselbe Ergebnis konnte für die vollständig resistente Sorte *Aristaro* nachgewiesen werden, bei *Genius* und *Butaro* lag die Infektionsanfälligkeit mit 16% und 25% über den Ergebnissen vergangener Studien. *Genius* aus der konventionellen Zucht zeichnet sich durch mittlere, stabile Erträge, auch unter ökologischen Bedingungen, sowie durch einen hohen Proteingehalt und gute Resistenz vor allem gegen Mehltau, aber auch gegen Gelb- und Braunrost aus (BSA, 2021; Saatbau Linz, 2019). *Butaro* und *Aristaro* stammen beide aus der biologisch-dynamischen Zucht und sind durch geringe Anfälligkeit gegenüber Mehltau und Ährenfusarium sowie einen sehr hohen Proteingehalt und gute Backqualitäten gekennzeichnet (Dottenfelderhof, o.J.-a, o.J.-b). Trotz einer hervorragenden Steinbrandresistenz charakterisiert sich *Aristaro* aber wie *Butaro* zusätzlich durch geringe Kornerträge (BSA, 2021).

Für die biologisch-dynamische Sorte *Graziaro* wurde in vergangenen Versuchen ebenfalls eine hohe Steinbrandresistenz beschrieben (Dottenfelderhof, o.J.-c). Im aktuellen Versuch lag die Infektionsrate jedoch bei 62%, weshalb darauf geschlossen werden kann, dass *Graziaro* unterschiedlich auf verschiedenen aggressive *T. caries*-Isolate reagiert. Gleiches gilt für die Sorte *Brandex*, bei der trotz einer nachgewiesenen Resistenz 54% der Ähren befallen waren (Karus, 2020).

In Österreich stehen mit *Spontan* und *Tilliko* Sorten zur Verfügung, die für den biologischen Anbau geeignet sind und auch gegen aggressivere Steinbranderreger Resistenzen aufweisen, wenn auch nicht im Umfang vergangener Feldversuche. Aufgrund des höheren Ertrags und der niedrigeren Anfälligkeit im aktuellen Versuch ist jedoch *Spontan* gegenüber *Tilliko* zu bevorzugen. Für Deutschland ist zusätzlich *Genius* mit einem stabilen mittleren Ertrag und zuverlässiger Resistenz für den biologischen Anbau hervorzuheben. Des Weiteren kann der aktuelle Sortentest bestätigen, dass *Aristaro*, *UI SRG*, *Deloris* und *Unitar* trotz fehlenden Zulassungen in Österreich weiterhin exzellente Resistenzquellen für die biologische Zucht von steinbrandresistentem Winterweizen darstellen. Besonders im Hinblick auf aggressivere Steinbranderreger sind diese Sorten als hervorragendes Ausgangsmaterial hervorzuheben.

4.4 Resistenz der Marker-getesteten Züchtungslinien

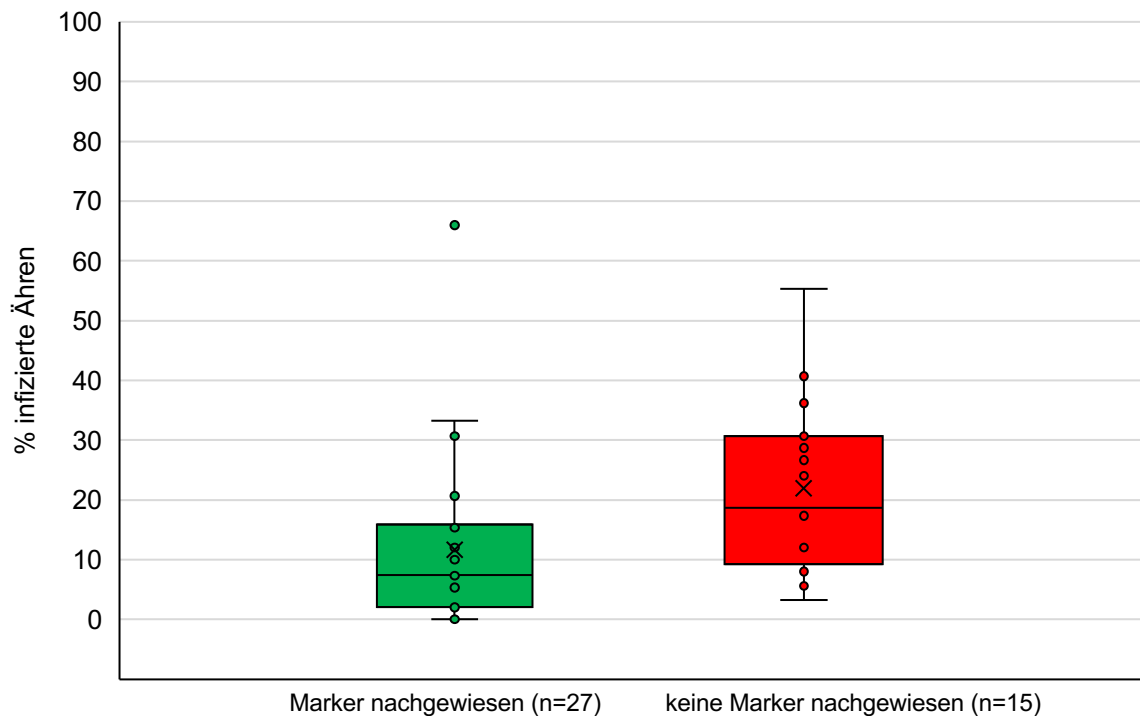


Abbildung 8: Boxplots der Infektionszahlen für die 42 neuen Züchtungslinien, bei denen die verwendeten KASP Marker nachgewiesen, bzw. nicht nachgewiesen werden konnten.

Durch die phänotypische Erfassung der Ähreninfektionen konnte festgestellt werden, dass fast alle Züchtungslinien, bei denen mittels KASP Marker ein oder mehrere Resistenzfaktoren nachgewiesen werden konnten, eine Steinbrandresistenz aufweisen. Der erste Boxplot in *Abbildung 8* zeigt die Befallsraten der 27 Linien, bei denen mindestens ein Marker gefunden wurde. Dabei liegt die Infektionsrate im Durchschnitt bei 11,69%, drei Linien waren vollständig resistent, 15 Linien weisen einen Befall von weniger als 10% auf. Den einzigen Ausreißer bildet *BTX518EX03-3K* mit einem durchschnittlichen Anteil an infizierten Ähren von 66%. Da sowohl bei der Feldmessung als auch bei der Labormessung ein Wert über 60% ermittelt wurde, lässt sich ein Messfehler ausschließen. Als mögliche Erklärung kann angeführt werden, dass es im Laufe der Selbstungsschritte zu einer Rekombination oder Mutation an einer oder mehrerer Stellen einer Resistenz im Genom gekommen sein könnte (Becker, 2019). Unterstützend lässt sich erwähnen, dass bei der Linie *BTX518EX03-11K*, die denselben Stammbaum aufweist und bei der dieselben Marker nachgewiesen wurden, lediglich 16% aller Ähren infiziert waren. Aufgrund der durchschnittlich niedrigen Infektionsraten bei fast allen neuen Züchtungslinien mit nachgewiesenen

Resistenzfaktoren lässt sich jedoch bestätigen, dass der Einsatz der verwendeten KASP Marker auch für das in diesem Steinbrandversuch verwendete *T. caries*-Isolat eine geeignete Methode zur Erkennung von Resistenzen darstellt.

Der zweite Boxplot in *Abbildung 8* zeigt die Infektionsraten der übrigen 15 Linien mit Nullallelen, bei denen keiner der eingesetzten Marker nachgewiesen wurde. Im Durchschnitt liegt der Befall bei 21,98%, bei vier der 15 Linien waren weniger als 10% der Ähren infiziert. Obwohl die mit KASP Markern untersuchten QTL nicht im Pflanzenmaterial vorhanden waren, zeigen auch die 15 restlichen Züchtungslinien moderate bis sehr gute Resistenzen nach einer Steinbrandinfektion. Begründet werden kann dies mit zusätzlichen Resistenzfaktoren im Genom des Pflanzenmaterials, die nicht von den hier verwendeten Markern abgedeckt werden. Zum einen wurde in jedem Stammbaum der 42 neuen Züchtungen mindestens einmal die Linien *S5.58*, *P106.24* oder *P101.30* eingekreuzt. Die Abstammung lässt sich auf die hochgradig resistenten Sorten *Blizzard* und *Bonneville* sowie auf die türkische Landrasse *PI 119333* zurückführen, deren Resistenzfaktoren gleichzeitig die Grundlage für die von Muellner et al. (2020, 2021) entwickelten QTL-Marker darstellen. Zusätzlich wurden die Sorten *Spontan* und *Genius* mit bekannter Resistenz, jedoch bisher nicht eindeutig identifiziertem genetischen Hintergrund für die Kreuzungen verwendet. Es ist wahrscheinlich, dass die Steinbrandresistenz der Züchtungslinien mit Nullallelen auf die Abstammung von diesen beiden Sorten zurückzuführen ist. Im Sortenversuch zeigten sowohl *Spontan* mit einer Infektionsrate von 17,5% also auch *Genius* mit 16% vergleichbare Werte wie der durchschnittliche Befall der 15 Linien ohne Marker-Fund mit 21,98%. Da die Resistenzquellen von *Spontan* und *Genius* nicht mit genetischen Markern getestet wurden, die Infektionszahlen jedoch auf einen Zusammenhang hindeuten, kann die Abstammung von diesen beiden Sorten die Resistenz der 15 Linien ohne Marker erklären. *Tillstop* als Faktor für die Resistenz ist unwahrscheinlich, da die Infektionsrate im Sortenversuch bereits bei 52,67% lag. *Tommi* wurde nur in einen der zehn verschiedenen Stammbäume eingekreuzt und kann die Resistenz der Linien ohne nachgewiesene Marker ebenfalls nicht erklären.

4.5 Resistenz unterschiedlicher QTL-Kombinationen

Eine genauere Betrachtung der mittels KASP Marker nachgewiesenen QTL-Kombinationen zeigt, dass bei den 27 Züchtungslinien mit nachgewiesenen Markern elf verschiedene Variationen gefunden wurden. Fünf Kombinationen konnten dabei eindeutig nachgewiesen werden, bei den sechs übrigen Varianten war der Nachweis eines oder mehrerer QTL nicht zweifelsfrei möglich (Tabelle 5).

Tabelle 5: Übersicht über nachgewiesene QTL-Kombinationen verschiedener Pedigrees mit den Infektionsraten je Pedigree und je QTL.

QTL (Chromosom)	Pedigree	Infizierte Ähren je Pedigree (%)	Infizierte Ähren je QTL (%)
1B, 7D	SPO/S5.58//TOB/3/GEN/S5.58//EGD	0,00	0,44
	S5.58/TOM//N17/3/SPO/S5.58//TOB	1,33	
	GEN/S5.58//EGD/3/SPO/S5.58//TSP	0,00	
7A, 7D	SPO/S5.58//TOB/3/P101.30/TOR	2,01	2,01
1B (?), 7A, 7D	SPO/S5.58//TSP/3/AXA//MID/S5.58	6,00	6,00
1A (?), 1B	GEN/S5.58//EGD/3/SPO/S5.58//TSP **	12,67	6,33
	SPO/S5.58//TSP/3/AXA//MID/S5.58	0,00	
1A, 1B	SPO/S5.58//TOB/3/GEN/S5.58//EGD *	4,00	7,11
	KOL/S5.58//MID/3/GEN/S5.58//EGD	6,00	
	GEN/S5.58//EGD/3/SPO/S5.58//TOB	11,33	
1A (?), 1B (?), 7D	GEN/S5.58//EGD/3/SPO/S5.58//TSP	15,87	8,27
	SPO/S5.58//TSP/3/AXA//MID/S5.58	0,67	
1A	KOL/S5.58//MID/3/GEN/S5.58//EGD	8,67	8,67
1A, 1B (?)	SPO/S5.58//TOB/3/ARM//MID/S5.58	13,23	12,62
	SPO/S5.58//TOB/3/P101.30/TOR	12,00	
1A, 7D	SPO/S5.58//TOB/3/GEN/S5.58//EGD	7,40	14,10
	S5.58/TOM//N17/3/SPO/S5.58//TOB *	41,00	
	GEN/S5.58//EGD/3/SPO/S5.58//TSP	7,33	
	GEN/S5.58//EGD/3/SPO/S5.58//TOB	0,67	
1B (?), 7D	SPO/S5.58//TOB/3/P101.30/TOR	15,84	15,84
1B (?)	SPO/S5.58//TOB/3/ARM//MID/S5.58	30,67	27,46
	CAP/P106.24//BST/3/SPO/S5.58//TOB *	24,26	

* Marker-Kombination doppelt aufgetreten, ** Marker-Kombination dreifach aufgetreten

Das QTL *QBt.ifa-1AL* auf Chromosom **1A** konnte insgesamt 18-mal nachgewiesen werden und steht wie die übrigen QTL in klarem Zusammenhang mit einer phänotypisch beobachteten Resistenz nach einer *T. caries*-Infektion. Sowohl

einzelnen als auch in Kombination mit anderen QTL zeigte sich eine niedrige Befallsrate von durchschnittlich maximal 14,10% (*Tabelle 5*). Beim Mapping durch Muellner et al. (2021) war *QBt.ifa-1AL* eine wichtige und stabile Quelle für Steinbrand- und Zwergsteinbrandresistenzen unter allen getesteten Umweltbedingungen. Es wird vermutet, dass *QBt.ifa-1AL* mit dem bereits von Chen et al. (2016) nachgewiesenen Resistenzfaktor für Zwergsteinbrand auf Chromosom 1A identisch aufgrund gleicher Abstammung ist. Das hier nachgewiesene QTL auf Chromosom 1A entstammt einer Verwandtschaft mit den Weizensorten Bonneville und Blizzard und kann eventuell mit dem Resistenzgen *Bt3* in Verbindung gebracht werden (Muellner et al., 2021).

QTL *QBt.ifa-1BS* auf Chromosom **1B** ist insgesamt 19-mal aufgetreten und weist einzeln oder in Kombination mit anderen QTL eine maximale Infektionsrate von 27,46% auf (*Tabelle 5*). Bereits vor dem Mapping durch Muellner et al. (2021) wurde Chromosom 1B in mehreren unabhängigen Studien durch den Nachweis verschiedener Haupt- und Neben-QTL als wichtige Resistenzquelle identifiziert (Dumalasová et al., 2012; Fofana et al., 2008; Singh et al., 2016). Auch hier konnte nachgewiesen werden, dass *QBt.ifa-1BS* – dessen Resistenzquelle ebenfalls von den Weizensorten Bonneville und Blizzard stammt (Muellner et al., 2021) – eindeutig in Verbindung mit einer Steinbrand-Resistenz steht.

Das QTL *QBt.ifa-7AL* auf Chromosom **7A** konnte nur zweimal nachgewiesen werden, zeichnet sich aber durch eine sehr geringe Infektionsrate von maximal 6,00% bei allen Genotypen mit entsprechender QTL-Kombination aus (*Tabelle 5*). Im Mapping-Versuch von *QBt.ifa-7AL* zeigte sich jedoch nur ein moderater Effekt, sowohl auf Steinbrand als auch auf Zwergsteinbrand. Dabei konnte unter künstlichen Bedingungen im Gewächshaus keine Resistenzwirkung beobachtet werden, was damit begründet wurde, dass die Expression bestimmter Resistenz-Gene an gewisse Umweltbedingungen geknüpft sein könnte. Experimente in Gewächshäusern können dieses komplexe Zusammenspiel aus Pathogen, pflanzlichem Genotyp und der Umwelt nur begrenzt abbilden (Muellner et al., 2021). Der Begründung kann aufgrund der Ergebnisse des aktuellen Steinbrandversuchs zugestimmt werden, da *QBt.ifa-7AL* unter Freilandbedingungen sehr wohl eine Resistenz auslösen konnte. *QBt.ifa-7AL* stimmt mit einem von Wang et al. (2019) gefundenem Resistenzfaktor für

Zwergsteinbrand auf Chromosom 7A überein und stammt möglicherweise aus der hochgradig resistenten Linie PI 476212, die sowohl in den Weizensorten Blizzard als auch Bonneville enthalten ist (Muellner et al., 2021).

QTL *QBt.ifa-7DS/Bt12* auf Chromosom **7D** ist insgesamt 13-mal aufgetreten, mit einer maximalen Infektionsrate aller QTL-Kombinationen von 15,84% (Tabelle 5). Der Ursprung dieser Resistenzquelle lässt sich auf die 1937 gesammelte türkische Landrasse PI 119333 zurückführen (Goates & Bockelman, 2012). Im Mapping zeigte *QBt.ifa-7DS/Bt12* hohe Relevanz zur Erzeugung von Steinbrand- und Zwergsteinbrandresistenzen, was in dieser Untersuchung aufgrund der phänotypisch niedrigen Infektionsraten bestätigt werden kann. Muellner et al. (2020) konnten *QBt.ifa-7DS/Bt12* außerdem dem *Bt12*-Gen zuordnen, welches aktuell gegen die meisten bekannten Steinbrand- und Zwergsteinbrand-Rassen Resistenz verleiht.

Als einziges QTL konnte *QBt.ifa-4B* auf Chromosom **4B** im Pflanzenmaterial nicht nachgewiesen werden. *QBt.ifa-4B* stammt ebenfalls von der Landrasse PI 119333, zeigte im Versuch von Muellner et al. (2020) jedoch nur einen geringen Effekt auf die Steinbrand- und Zwergsteinbrandresistenz von Weizen.

Zu berücksichtigen sind neben der Wirkung einzelner QTL auch eventuell auftretende epistatische Interaktionen zwischen verschiedenen QTL. Muellner et al. (2020) konnten beobachten, dass zwischen *QBt.ifa-1BS:QBt.ifa-1AL*, *QBt.ifa-1AL:QBt.ifa-7AL* und *QBt.ifa-1BS:QBt.ifa-7AL* Gen-Interaktionen vorliegen. In dieser Untersuchung kann lediglich der Effekt zwischen *QBt.ifa-1BS:QBt.ifa-1AL* betrachtet werden (Tabelle 5). Hier zeigt sich, dass beim kombinierten Auftreten von *QBt.ifa-1BS:QBt.ifa-1AL* geringere Infektionszahlen gemessen wurden als beim separaten Nachweis von *QBt.ifa-1BS* und *QBt.ifa-1AL*. Muellner et al. (2020) beschreiben jedoch außerdem, dass sich die epistatischen Beziehungen in der Untersuchung hauptsächlich auf das Unterdrücken eines QTL durch ein anderes beschränken. Dieser Effekt ist möglicherweise auch im aktuellen Steinbrandversuch aufgetreten, kann jedoch aufgrund der geringen Datenmenge nicht eindeutig belegt werden. Zu berücksichtigen ist jedoch, dass bei der Selektion bestimmter QTL eine robustere Resistenz erzeugt werden kann, je mehr unterschiedliche Resistenzfaktoren in das Genom aufgenommen werden. Durch

Gen-Pyramidisierung möglichst vieler Faktoren kann die Anfälligkeit resistenter Sorten und Linien gegen sich neu entwickelnde *Tilletia*-Rassen reduziert werden (Matanguihan et al., 2011; Mehboob-ur-Rahman et al., 2011).

4.6 Einfluss von Grannen auf die Infektionsanfälligkeit

Bei 57 Sorten und Linien wurde der Anteil begrannter und unbegrannter Ähren gemessen. Dadurch ist eine Gegenüberstellung des Anteils an befallenen Ähren im Vergleich zum Grad der Begrannung möglich (Abbildung 9). Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen abnehmender Befallsrate und weniger bzw. mehr begrannnten Ähren ist nicht nachzuweisen. Der Pearson-Korrelationskoeffizient für den Zusammenhang zwischen dem Anteil befallener Ähren und dem Anteil unbegrannter Ähren liegt bei 0,06 und bestätigt die fehlende Korrelation zwischen beiden Merkmalen. Sowohl im Bereich niedriger Infektionsraten als auch bei anfälligen Phänotypen zeigten sich Sorten und Linien mit Begrannung.

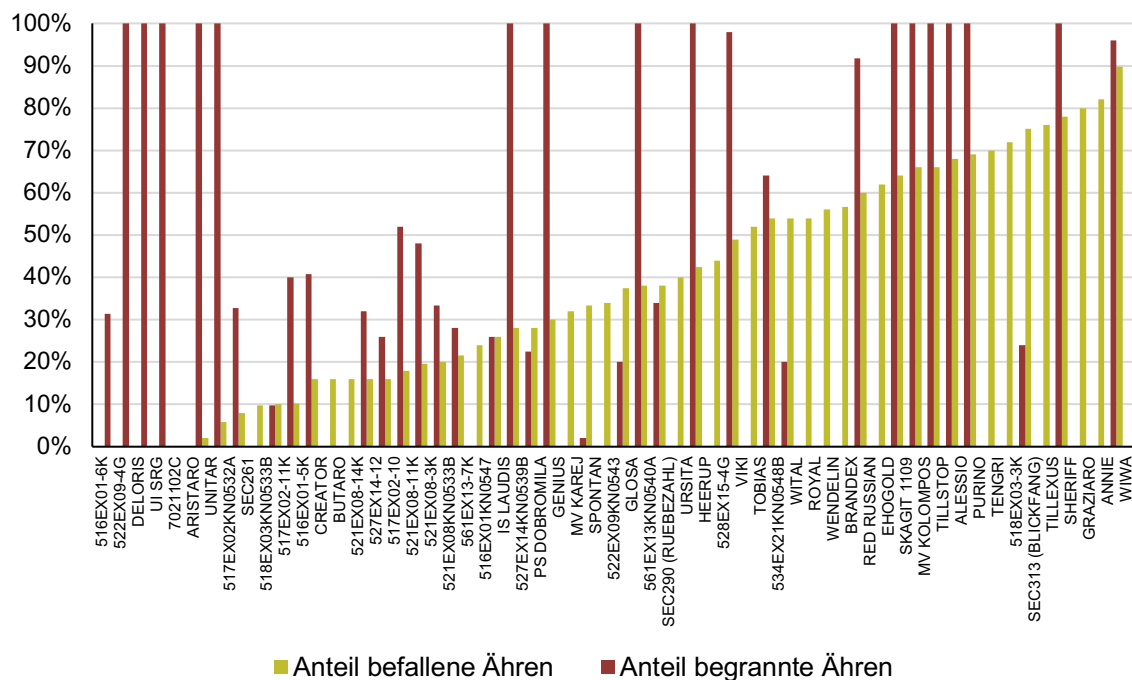


Abbildung 9: Anteil befallener Ähren (%) im Verhältnis zum Anteil begrannter Ähren (%) bei 57 Sorten bzw. Linien, aufgereiht nach dem Grad der Infektion.

Grannen können durch ihre photosynthetische Aktivität zur Ertragsbildung bei Getreidepflanzen beitragen, vor allem in trockenen Gebieten ist dieser Effekt von Bedeutung (Rebetzke et al., 2016). Auf der anderen Seite wurde das Fehlen einer Begrannung aber mit einer gesteigerten Frosttoleranz in Verbindung gebracht

(Whaley et al., 2004). Auch die Wirkung auf biotische Faktoren ist zweigeteilt. So tragen Grannen zur Abwehr von Fressfeinden bei, beispielsweise kann die Anfälligkeit von Weizen gegen die große Getreideblattlaus (*Sitobion avenae* F.) bei begranneten Individuen reduziert werden (Acreman & Dixon, 1986). Gleichzeitig sind begrannete Getreidepflanzen jedoch anfälliger gegen bestimmte Krankheiten wie die Ährenfusariose (Mesterházy, 1995). Ein Effekt auf die Toleranz gegen Steinbrand oder Zwergsteinbrand wurde bisher nicht beschrieben, ist jedoch aufgrund des physiologischen Ablaufs einer *Tilletia*-Infektion unwahrscheinlich. Da die Erreger bodenbürtig in junge Keimlinge eindringen und sich potentielle Resistenzen in frühen Wachstumsstadien ausbilden, spielt die Getreideähre und damit auch die Begrannung für das Ausmaß einer Infektion wahrscheinlich keine Rolle (Gaudet et al., 2007; Hoffmann, 1982).

5 Zusammenfassung

Der Sortentest 2021 in Tulln, Österreich zeigte, dass einige vormals als Steinbrand-resistent deklarierte Winterweizensorten gegen einen aggressiven Erreger durchaus anfällig sind. So ergab der Feldversuch für die Sorten *Genius*, *Spontan*, *Tilliko*, *Butaro*, *Brandex*, *Graziaro* und *Tobias* trotz nachgewiesenen Resistenzen in vergangenen Untersuchungen teils deutlich höhere Infektionsraten. Für den biologischen Weizenanbau in Österreich stehen mit *Spontan* und *Tilliko* jedoch weiterhin Sorten zur Verfügung, die gegen schwächere Erreger eine hervorragende und gegen aggressivere Steinbrand-Erreger eine mittlere Resistenz aufweisen. Für die biologische Landwirtschaft in Deutschland sind aufgrund der Ergebnisse dieser Untersuchung die Sorten *Aristaro*, *Genius*, *Spontan*, *Tilliko* und *Butaro* hervorzuheben. Ein sehr positives Ergebnis zeigten auch die Sorten *UI SRG*, *Deloris* und *Unitar*. Trotz teilweise fehlender Sortenzulassung in Europa stellen diese auch gegen sehr aggressive *T. caries*-Isolate weiterhin eine hervorragende Resistenzquelle für die biologische Zucht von Steinbrand-resistenten Winterweizensorten dar. Der Feldversuch unter Verwendung eines sehr aggressiven Isolats verdeutlicht zusätzlich die Notwendigkeit von kontinuierlichen Tests, um die Anfälligkeit von vermeintlich resistenten Sorten gegen neue *Tilletia*-Rassen laufend zu überprüfen.

Der Einsatz von markergestützter Selektion zur Erzeugung neuer Steinbrand-resistenter Zuchtlinien bestätigt im aktuellen Versuch die Eignung der verwendeten KASP Marker für die QTL *QBt.ifa-1AL*, *QBt.ifa-1BS*, *QBt.ifa-7AL* und *QBt.ifa-7DS/Bt12*. Lediglich *QBt.ifa-4B* konnte mit den eingesetzten Markern im getesteten Pflanzenmaterial nicht nachgewiesen werden.

Der Vergleich unterschiedlicher Messmethoden zur Bestimmung der Infektionsrate zeigte, dass die Beurteilung eines Steinbrandbefalls rein anhand der Messung befallener Ähren zu einer Unterschätzung des Befalls führen kann. Für die Selektion der besten Individuen empfiehlt sich die Überprüfung der einzelnen Körner einer jeden Ähre, um so eine zu niedrige Infektionsrate auszuschließen. Zusätzlich ergab dieser Feldversuch, dass die Begrannung einer Ähre keinen Einfluss auf die Anfälligkeit gegenüber einer Steinbrandinfektion hat.

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Weltweite Verbreitung von Weizensteinbrand (Saari & Mamluk, 1996).....	4
Abbildung 2: Gewöhnlicher Steinbrand bei Weizen: a) Brandbutten in der Ähre am Feld (Hagenguth, 2016) und b) Aufgebrochene Brandbutten im Labor.	5
Abbildung 3: Exemplarischer Stammbaum für BTX516EX01-6K.....	13
Abbildung 4: Steinbrandversuch 2021 in Tulln: a) Ansicht der Versuchspartzellen und b) Bonitierung einer befallenen Ähre.	16
Abbildung 5: Detailanalyse befallener Weizenähren: a) Untersuchungsaufbau und b) Trennung in gesunde Körner (oben) und Brandbutten (unten).	17
Abbildung 6: Gegenüberstellung des Anteils an infizierten Ähren aus der Feld- oder Labormessung; rechts ein vergrößerter Ausschnitt des Intervalls von 0 bis 20%.....	18
Abbildung 7: Anteil infizierter Ähren im Verhältnis zum Anteil infizierter Samen einer jeden Sorte bzw. Linie.	21
Abbildung 8: Boxplots der Infektionszahlen für die 42 neuen Züchtungslinien, bei denen die verwendeten KASP Marker nachgewiesen, bzw. nicht nachgewiesen werden konnten.	28
Abbildung 9: Anteil befallener Ähren (%) im Verhältnis zum Anteil begrannter Ähren (%) bei 57 Sorten bzw. Linien, aufgereiht nach dem Grad der Infektion.....	33

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Quantitative Trait Loci (QTL), für deren Nachweis KASP Marker verwendet wurden.	14
Tabelle 2: t-Test der Mittelwerte aus Feld- und Labormessung für vier Bereiche aus der Feldmessung mit den Infektionsraten 0-10%, 0-20%, 0-50% und 0-100%, sowie den Pearson-Korrelationskoeffizienten r_P	19
Tabelle 3: Infektionszahlen auf Basis der Labormessung.	22
Tabelle 4: Ergebnis des Steinbrand-Sortenversuchs 2021 in Tulln, Österreich; Übersicht über die Zulassung der getesteten Sorten in Österreich und Deutschland und die Prüfung im biologischen Anbau.	24
Tabelle 5: Übersicht über nachgewiesene QTL-Kombinationen verschiedener Pedigrees mit den Infektionsraten je Pedigree und je QTL.	30

Literatur- und Quellenverzeichnis

- Acreman TM, Dixon, AFG (1986) The role of awns in the resistance of cereals to the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Annals of Applied Biology* 109:375-381. <https://doi.org/10.1111/J.1744-7348.1986.TB05329.X>
- AGES (2021) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2021 Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Wien. Schriftenreihe 21/2021.
- Babayants LT, Babayants OV, Baranovskaya VL, Dubinina LA (2006) *Tilletia caries* and resistance of wheat to this pathogen in Ukraine. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 42 (Special Issue):33–36. <https://doi.org/10.17221/6228-CJGPB>
- Becker H (2019) Pflanzenzüchtung, 3. Aufl. Eugen Ulmer KG, Stuttgart-Hohenheim
- Ben-Ari G, Lavi U (2012) Marker-assisted selection in plant breeding. In: Altman A, Hasegawa PM (Hrsg) *Plant Biotechnology and Agriculture: Prospects for the 21st century*. Academic Press, Amsterdam, S 163-184
- BMEL (2019) Agrarpolitischer Bericht der Bundesregierung 2019. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, Berlin
- BMLRT (2021) Grüner Bericht 2021 - Die Situation in der österreichischen Land- und Forstwirtschaft, 62. Aufl. Bundesministerium für Landwirtschaft, Regionen und Tourismus (BMLRT), Wien
- Börner H, Schlüter K, Aumann, J (2009) *Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz*, 8. Aufl. Springer-Verlag, Kiel
- Botstein D, White RL, Skolnick M, Davis RW (1980) Construction of a genetic linkage map in man using restriction fragment length polymorphisms. *American Journal of Human Genetics* 32:314–331
- BSA (2021) Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte. Bundessortenamt, Hannover
- Chen D, Muhae-Ud-Din G, Liu T, Chen W, Liu C, Gao L (2021) Wheat varietal response to *Tilletia controversa* J. G. Kühn using qRT-PCR and laser confocal microscopy. *Genes* 12:425. <https://doi.org/10.3390/genes12030425>
- Chen J, Guttieri MJ, Zhang J, Hole D, Souza E, Goates B (2016) A novel QTL associated with dwarf bunt resistance in Idaho 444 winter wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 129:2313–2322. <https://doi.org/10.1007/s00122-016-2783-2>
- Concibido VC, Young ND, Denny RL, Lange DA, Orf JH (1995) Marker assisted breeding in practice: RFLPs and soybean cyst nematode resistance. *Proceedings of an international symposium on the use of induced mutations and molecular techniques for crop improvement*, Jun 19-24 1995, Wien.

Internationale Atomenergie-Organisation, Wien, S 245–251

Cultivari Getreidezüchtungsforschung Darzau (o.J.) Tilliko-Qualitätsweizen für besondere Standorte. <https://www.cultivari.de/sorten/tilliko/>. Abgerufen 23. Februar 2022

Dottenfelderhof (o.J.-a) Aristaro.
<https://www.dottenfelderhof.de/fileadmin/images/forschung/Zuechtung/Weizen/Aristaro.pdf>. Abgerufen 23. Februar 2022

Dottenfelderhof (o.J.-b) Butaro.
<https://www.dottenfelderhof.de/fileadmin/images/forschung/Zuechtung/Weizen/Butaro.pdf>. Abgerufen 23. Februar 2022

Dottenfelderhof (o.J.-c) Graziaro.
<https://www.dottenfelderhof.de/fileadmin/images/forschung/Zuechtung/Weizen/Graziaro.pdf>. Abgerufen 23. Februar 2022

Dumalasová V, Leišová-Svobodová L, Bartoš P (2014) Common bunt resistance of Czech and European winter wheat cultivars and breeder lines. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 50:201–207. <https://doi.org/10.17221/241/2013-cjgpb>

Dumalasová V, Simmonds J, Bartoš P, Snape J (2012) Location of genes for common bunt resistance in the European winter wheat cv. Trintella. *Euphytica* 186:257–264. <https://doi.org/10.1007/s10681-012-0671-7>

Europäische Kommission (2022) EU plant variety database (v.3.4). https://ec.europa.eu/food/plant/plant_propagation_material/plant_variety_catalogues_databases/search/public/index.cfm?event=SearchForm&ctl_type=A. Abgerufen am 20. Januar 2022

Fernández JA (1978) Histological aspects of dwarf bunt resistance in wheat. *Phytopathology* 68:1417. <https://doi.org/10.1094/Phyto-68-1417>

Fischer K, Schön CC, Miedaner T (2002) Chancen der Resistenzzüchtung gegen Brandpilze bei Weizen für den ökologischen Pflanzenbau. Landessaatzuchtanstalt, Stuttgart-Hohenheim

Fofana B, Humphreys DG, Cloutier S, McCartney CA, Somers DJ (2008) Mapping quantitative trait loci controlling common bunt resistance in a doubled haploid population derived from the spring wheat cross RL4452 × AC Domain. *Molecular Breeding* 21:317–325. <https://doi.org/10.1007/s11032-007-9131-9>

Galaev AV, Babayants LT, Sivolap YM (2006) DNA-markers for resistance to common bunt transferred from *Aegilops cylindrica* Host. to hexaploid wheat. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding* 42 (Special Issue):62–65. <https://doi.org/10.17221/6234-CJGPB>

Gaudet DA, Lu ZX, Leggett F, Puchalski B, Laroche A (2007) Compatible and incompatible interactions in wheat involving the *Bt-10* gene for resistance to *Tilletia tritici*, the common bunt pathogen. *Phytopathology* 97:1397–1405.

<https://doi.org/10.1094/PHYTO-97-11-1397>

- Gaudet D, Menzies J (2012) Common bunt of wheat: An old foe remains a current threat. In: Sharma, I (Hrsg) Disease resistance in wheat. CABI Publishing, Wallingford, S 220–235
- Goates BJ (1996) Common bunt and dwarf bunt. In: Wilcoxson RD, Saari EE (Hrsg) Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexiko-Stadt, S 12-25
- Goates BJ, Bockelman HE (2012) Identification of new sources of high levels of resistance to dwarf bunt and common bunt among winter wheat landraces in the USDA-ARS National Small Grains Collection. *Crop Science* 52:2595–2605. <https://doi.org/10.2135/cropsci2012.01.0060>
- Gordon T, Wang R, Hole D, Bockelman H, Bonman JM, Chen J (2020) Genetic characterization and genome-wide association mapping for dwarf bunt resistance in bread wheat accessions from the USDA National Small Grains Collection. *Theoretical and Applied Genetics* 133:1069–1080. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03532-0>
- Hagenguth, JF (2016) Breeding for organic agriculture: Evaluation of common bunt resistance in three winter wheat populations derived from M822123, PI178383 and PI560841-bcl (Masterarbeit). Universität für Bodenkultur, Wien
- Hallmann J, von Tiedemann A (2019) *Phytomedizin*, 3. Aufl. Eugen Ulmer KG, Stuttgart-Hohenheim
- Hansen F (1958) Anatomische Untersuchungen über Eindringen und Ausbreitung von *Tilletia*-Arten in Getreidepflanzen in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand der Wirtspflanze. *Journal of Phytopathology* 34:169–208
- Hoffmann JA (1982) Bunt of wheat. *Plant Disease* 66:979-986. <https://doi.org/10.1094/PD-66-979>
- Karalus W (2020) *Öko-Sortenempfehlungen 2020 - Winterweizen*. Sächsisches Landesamt für Umwelt, Landwirtschaft und Geologie, Dresden
- Kaur B, Mavi GS, Gill MS, Saini DK (2020) Utilization of KASP technology for wheat improvement. *Cereal Research Communications* 48:409–421. <https://doi.org/10.1007/s42976-020-00057-6>
- LfL (2021) Sortenanfälligkeit von Winter- und Spelzweizen gegenüber Steinbrand. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising. <https://www.lfl.bayern.de/ipz/saatgut/164680/index.php>. Abgerufen 25. Februar 2022
- Limagrain Field Seeds (o.J.) Spontan. <https://www.lgseeds.de/weizen/spontan>. Abgerufen 22. Februar 2022
- Madenova A, Sapakhova Z, Bakirov S, Galymbek K, Yernazarova G, Kokhmetova A, Keishilov Z (2021) Screening of wheat genotypes for the presence of

-
- common bunt resistance genes. *Saudi Journal of Biological Sciences* 28:2816–2823. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.02.013>
- Matanguihan JB, Murphy KM, Jones SS (2011) Control of common bunt in organic wheat. *Plant Disease* 95:92–103. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-10-0620>
- Mathre DE (2000) Stinking smut of wheat. *The Plant Health Instructor*. <https://doi.org/10.1094/PHI-I-2000-1030-01>. Aktualisiert 2005
- Mehboob-ur-Rahman MA, Shaheen T, Tabbasam N, Zafa Y, Paterson AH (2011) Marker-assisted breeding in higher plants. In: Lichtfouse E (Hrsg) *Alternative farming systems, biotechnology, drought stress and ecological fertilisation*, 6. Aufl. Springer, Dordrecht, S 39-76
- Mesterházy A (1995) Types and components of resistance to *Fusarium* head blight of wheat. *Plant Breeding* 114:377–386. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.1995.tb00816.x>
- Miedaner T (2014) *Kulturpflanzen: Botanik - Geschichte - Perspektiven*, Springer-Verlag, Stuttgart-Hohenheim. <https://doi.org/10.1007/978-3-642-55293-9>
- Mourad AMI, Sallam A, Belamkar V, Mahdy E, Bakheit B, Abo El-Wafaa A, Baenziger, PS (2018) Genetic architecture of common bunt resistance in winter wheat using genome-wide association study. *BMC Plant Biology* 18:280. <https://doi.org/10.1186/s12870-018-1435-x>
- Muellner AE, Buerstmayr M, Eshonkulov B, Hole D, Michel S, Hagenguth JF, Pachler B, Pernold R, Buerstmayr H (2021) Comparative mapping and validation of multiple disease resistance QTL for simultaneously controlling common and dwarf bunt in bread wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 134:489–503. <https://doi.org/10.1007/s00122-020-03708-8>
- Muellner AE, Eshonkulov B, Hagenguth J, Pachler B, Michel S, Buerstmayr M, Hole D, Buerstmayr H (2020) Genetic mapping of the common and dwarf bunt resistance gene *Bt12* descending from the wheat landrace PI119333. *Euphytica* 216:83. <https://doi.org/10.1007/s10681-020-02614-w>
- Rebetzke GJ, Bonnett DG, Reynolds MP (2016) Awns reduce grain number to increase grain size and harvestable yield in irrigated and rainfed spring wheat. *Journal of Experimental Botany* 67:2573–2586. <https://doi.org/10.1093/jxb/erw081>
- Ren Z, Zhang W, Wang M, Gao H, Shen H, Wang C, Liu T, Chen W, Gao L (2021) Characteristics of the infection of *Tilletia laevis* Kühn (syn. *Tilletia foetida* (Wallr.) Liro.) in compatible wheat. *The Plant Pathology Journal* 37:437–445. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.05.2021.0082>
- Ritzer E, Ehn M, Oberforster M, Buerstmayr H (2021) Pathogenicity pattern of Austrian *Tilletia caries* isolates on winter wheat (*Triticum aestivum*). 72. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Nov 22-24 2021, Raumberg-Gumpenstein

-
- Saari EE, Mamluk OF (1996) Wheat bunts and smuts. In: Wilcoxson RD, Saari EE (Hrsg) Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexiko-Stadt, S 1-11
- Saatbau Linz (2019) Genius.
<https://www.saatbau.com/saatgut/wintergetreide/winterweizen/qualitaetsweizen/genius/>. Abgerufen 22. Februar 2022
- Shewry PR (2009) Wheat. *Journal of Experimental Botany* 60:1537–1553.
<https://doi.org/10.1093/jxb/erp058>
- Shiferwa B, Smale M, Braun HJ, Duveiller E, Reynolds M, Muricho G (2012) Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Security* 5:291-317.
<https://doi.org/10.1007/s12571-013-0263-y>
- Singh A, Knox RE, DePauw RM, Singh AK, Cuthbert RD, Kumar S, Campbell HL (2016) Genetic mapping of common bunt resistance and plant height QTL in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 129:243–256.
<https://doi.org/10.1007/s00122-015-2624-8>
- Spieß H, Ewald B, Stoll E (2015) Weizensteinbrand. Institut für Biologische Landwirtschaft an Agrarkultur Lëtzebuerg, Munsbach
- Steffan PM, Torp AM, Borgen A, Backes G, Rasmussen SK (2017) Mapping of common bunt resistance gene *Bt9* in wheat. *Theoretical and Applied Genetics* 130:1031–1040. <https://doi.org/10.1007/s00122-017-2868-6>
- Suffert F, Latxague É, Sache I (2009) Plant pathogens as agroterrorist weapons: assessment of the threat for European agriculture and forestry. *Food Security* 1:221–232. <https://doi.org/10.1007/s12571-009-0014-2>
- USDA (2022) U.S. National Plant Germplasm System (2.2.1.2). United States Department of Agriculture - Germplasm Resources Information Network. <https://npgsweb.ars-grin.gov/gringlobal/search>. Abgerufen 20. Januar 2022
- Wächter R, Waldow F, Müller KJ, Spiess H, Heyden B, Furth U, Frahm J, Wenig W, Miedaner T, Dietrich S, Koch E (2007) Charakterisierung der Resistenz von Winterweizensorten und -zuchtlinien gegenüber Stainbrand (*Tilletia tritici*) und Zwergsteinbrand (*T. controversa*). *Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes* 59:30–39
- Wang R, Gordon T, Hole D, Zhao W, Isham K, Bonman JM, Goates B, Chen J (2019) Identification and assessment of two major QTLs for dwarf bunt resistance in winter wheat line 'IDO835'. *Theoretical and Applied Genetics* 132:2755–2766. <https://doi.org/10.1007/s00122-019-03385-2>
- Wang S, Knox RE, DePauw RM, Clarke FR, Clarke JM, Thomas JB (2009) Markers to a common bunt resistance gene derived from 'Blizzard' wheat (*Triticum aestivum* L.) and mapped to chromosome arm 1BS. *Theoretical and Applied Genetics* 119:541–553. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1063-9>

Weinhappel M, Riepl E (2013) Entwicklung des Befalles mit Weizensteinbrand (*Tilletia caries*) bei Saatgut in der Biosaatgutenerkennung in Österreich und Qualitätsvergleich zu Nachbasaatgut. In: Neuhoff D, Stumm, C, Ziegler S, Rahmann G, Hamm U, Köpke U (Hrsg) Tagungsband der 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität, Bonn, Mrz 5-8 2013. Verlag Dr. Köster, Berlin, S 256–259

Whaley JM, Kirby EJM, Spink JH, Foulkes MJ, Sparkes DL (2004) Frost damage to winter wheat in the UK: the effect of plant population density. *European Journal of Agronomy* 21:105–115. [https://doi.org/10.1016/S1161-0301\(03\)00090-X](https://doi.org/10.1016/S1161-0301(03)00090-X)

Xu Y (2010) *Molecular Plant Breeding*. CABI Publishing, Wallingford

Anhang

Anhang A: Übersicht über getestete Sorten bzw. Züchtungslinien

Anhang A-1: Getestete Sorten inklusive aktueller Sortenzulassung in der Europäischen Union.

Sorte/Zuchtstamm	Sortenzulassung Europäische Union*
702-1102C	(Zuchtstamm aus Dänemark)
ALESSIO	2016 in Österreich (AT)
ANNIE	2014 in Tschechien (CZ)
ARISTARO	2016 in Deutschland (DE)
BRANDEX-POPULATION	2016 in DE
BUTARO	2009 in DE; 2013-2019 in Luxemburg (LU)
CREATOR	2014 in Dänemark (DK); 2016 in Estland (EE) & Litauen (LT)
DELORIS	(2014 in den Vereinigten Staaten (US))
EHOGOLD	2014 in AT
GENIUS	2010 in DE & Ungarn (HU); 2014 in CZ
GLOSA	2005 in Rumänien (RO)
GRAZIARO	2016 in DE
HEERUP	2019 in DE
IS LAUDIS	2015 in der Slowakei (SK)
MV KAREJ	2011 in HU
MV KOLOMPOS	2009 in HU; 2013 in Kroatien (HR)
PIZZA	(2013 in der Schweiz (CH))
PS DOBROMILA	2018 in der SK
PURINO	2018 in DE
RED RUSSIAN	(Landsorte US)
ROYAL	(2015 in der CH)
SEC 261-05z 1-2	(Zuchtstamm von Secobra Saatzucht GmbH, DE)
RÜBEZAHL	2022 in DE
BLICKFANG	2021 in DE
SHERIFF	2015 in DK; 2016 in DE; 2017 in CZ; 2018 in LT
SKAGIT 1109	(Weizen-Population, Washington State Univ., US)
SKAGIT 1209	(Weizen-Population, Washington State Univ., US)
SPONTAN	2014 in AT & DE
TENGRI	(2007 in der CH)
TILLEXUS	2018 in AT
TILLIKO	2016 in AT; 2017 in DE
TILLSTOP	2018-2023 in AT
TOBIAS	2011 in Österreich
UI SRG	(2012 in US)
UNITAR	(Zuchtstamm von NARDI, Fundulea, RO)
URSITA	2021 in RO
VIKI	2016 in SK; 2018 in DE
WENDELIN	2018 in DE
WITAL	(2018 in CH)
WIWA	(2005 in CH); 2021 in CZ

* AGES Beschreibende Sortenliste (2021); BSA Beschreibende Sortenliste (2021); Europäische Kommission (2022)

Anhang A-2: Stammbaum aller neu entwickelten Züchtungslinien.

Zuchtstamm	Pedigree (Resistenzträger in rot)
BTX516EX01-10G	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX516EX01-11G	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX516EX01-5K	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX516EX01-6K	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX516EX01GN0547	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX516EX01KN0547	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX517EX02-10	MV KOLOMPOS/S5.58//MIDAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX517EX02-11K	MV KOLOMPOS/S5.58//MIDAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX517EX02GN0532A	MV KOLOMPOS/S5.58//MIDAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX517EX02KN0532A	MV KOLOMPOS/S5.58//MIDAS/3/GENIUS/S5.58//EHOGOLD
BTX518EX03-11G	S5.58/TOMMI//NEMCHOVSKAYA17/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX518EX03-3K	S5.58/TOMMI//NEMCHOVSKAYA17/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX518EX03-8G	S5.58/TOMMI//NEMCHOVSKAYA17/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX518EX03KN0533B	S5.58/TOMMI//NEMCHOVSKAYA17/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX521EX08-11K	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX521EX08-14K	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX521EX08-1G	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX521EX08-3K	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX521EX08G-N-0533A	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX521EX08KN0533B	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX522EX09-4G	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX522EX09-6GUF	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX522EX09GN0543	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX522EX09KN0543	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX527EX14-12	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX527EX14-5	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX527EX14GN0539A	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX527EX14KN0539B	GENIUS/S5.58//EHOGOLD/3/SPONTAN/S5.58//TILLSTOP
BTX528EX15-11GK	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/ARMINIUS//MIDAS/S5.58
BTX528EX15-4G	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/ARMINIUS//MIDAS/S5.58
BTX528EX15GN0544	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/ARMINIUS//MIDAS/S5.58
BTX534EX21-3	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/P101.30/TORAS
BTX534EX21-5K	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/P101.30/TORAS
BTX534EX21-7K	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/P101.30/TORAS
BTX534EX21KN0548B	SPONTAN/S5.58//TOBIAS/3/P101.30/TORAS
BTX559EX06-14G	SPONTAN/S5.58//TILLSTOP/3/AXARO//MIDAS/S5.58
BTX559EX06-4	SPONTAN/S5.58//TILLSTOP/3/AXARO//MIDAS/S5.58
BTX559EX06-9G	SPONTAN/S5.58//TILLSTOP/3/AXARO//MIDAS/S5.58
BTX561EX13-7K	CAPO/P106.24//BERNSTEIN/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX561EX13-8G	CAPO/P106.24//BERNSTEIN/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX561EX13GN0540A	CAPO/P106.24//BERNSTEIN/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS
BTX561EX13KN0540A	CAPO/P106.24//BERNSTEIN/3/SPONTAN/S5.58//TOBIAS

Anhang B: Infektionszahlen Sortenversuch

Anhang B: prozentualer Anteil befallener Ähren bei allen getesteten Sorten.

Sorte	Anteil befallener Ähren (Feld- und Labormessung)
ARISTARO	0,00%
UI SRG	0,00%
DELORIS	1,00%
UNITAR	6,00%
SEC261	10,00%
GENIUS	16,00%
SPONTAN	17,46%
IS LAUDIS	20,00%
HEERUP	21,33%
CREATOR	22,00%
TILLIKO	24,00%
BUTARO	25,00%
GLOSA	31,17%
PS DOBROMILA	32,67%
URSITA	36,67%
PIZZA	38,67%
VIKI	39,66%
WENDELIN	41,33%
MV KAREJ	42,67%
RÜBEZahl	45,00%
SKAGIT 1209	46,00%
RED RUSSIAN	49,33%
ROYAL	50,67%
TILLSTOP	52,67%
BRANDEX	54,22%
TILLEXUS	55,33%
ALESSIO	57,33%
SHERIFF	58,00%
SKAGIT 1109	60,00%
GRAZIARO	61,16%
WITAL	62,00%
TENGRI	63,33%
TOBIAS	64,00%
EHOGLD	68,67%
PURINO	70,00%
MV KOLOMPOS	71,33%
BLICKFANG	74,06%
WIWA	77,93%
ANNIE	81,33%

Anhang C: Evaluation of ECOBREED winter wheat germplasm for common bunt resistance

Evaluation of ECOBREED winter wheat germplasm for common bunt resistance

Kilian PFATRISCH¹, Martina STERNBAUER¹, Veronika DUMALASOVÁ², Cristina MARINCIU,³
Heinrich GRAUSGRUBER¹

¹ Department of Crop Sciences, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Konrad Lorenz-Str. 24, 3430 Tulln, Austria

² Crop Research Institute, Drnovska 507/73, 161 06 Praha 6 – Ruzyně, Czech Republic

³ National Agricultural Research and Development Institute, 1 Nicolae Titulescu Str., Călărași, 915200 Fundulea, Romania

(✉) heinrich.grausgruber@boku.ac.at

Abstract

The Horizon 2020 project ECOBREED aims to (i) test currently available winter wheat varieties for their resistance to common bunt and (ii) develop new organic winter wheat lines resistant to common bunt by marker-assisted selection (MAS). In the present study, 42 multi-parent winter wheat breeding lines were tested in the field after artificial inoculation with common bunt together with 40 varieties and/or resistance sources. The breeding lines were selected after two MAS cycles. Highly resistant breeding lines were identified carrying different resistance QTL combinations. Additionally, moderately resistant lines were identified carrying none of the QTL followed by MAS, indicating that other resistance genes (*i.e.*, from ‘Spontan’ and ‘Genius’) were involved in the resistance response of the multi-parent crosses. Several breeding lines and varieties ‘Genius’, ‘Spontan’ and ‘Unitar’ showed a high percentage of spikes with a form of ‘partial resistance’ with only a few spikelets per spike carrying bunt balls. The results also revealed that artificial testing with different *Tilletia* isolates is necessary due to the presence of genotypexisolate interactions. For example, varieties carrying *Bt10* (*e.g.*, ‘Tillstop’, ‘Tillexus’) were resistant against the Czech isolate, but not against the Austrian isolate.

Keywords

Marker-assisted selection · organic breeding · resistance · seed-borne disease · *Tilletia caries* · *Triticum aestivum*

Introduction

Common bunt caused by *Tilletia tritici* (Bjerk.) and *T. laevis* (Kühn) is an important seed/soilborne fungal disease in organic wheat growing as effective control by seed treatment with synthetic fungicides is not allowed. Seed treatments authorized for organic farming are available, however, may require investment in new machinery (*e.g.*, brushing machine) and/or affect germination capacity (Borgen, 2004; Wiik, 2021). The production of bunt sori instead of wheat kernels reduce grain yield but also deteriorate wheat end-use quality as the teliospores release trimethylamine, a

metabolic compound smelling like rotten fish (Gopal & Sekhon, 1988; Mathre, 2000; Preugschat *et al.*, 2014). Therefore, the development of varieties resistant to common bunt is the best and cost-effective method to control the disease in organic wheat production. Hitherto, 16 race specific resistance genes to common bunt have been reported in wheat (Goates & Bockelman, 2012), thereof several *Bt*-genes were mapped and molecular markers developed (*e.g.*, Laroche *et al.*, 2000; Wang *et al.*, 2009; Steffan *et al.*, 2017; Muellner *et al.*, 2020; 2021).

Here we report the results of a first field resistance testing of multi-parent breeding lines developed within the H2020 project ECOBREED and screened for bunt resistance QTL described by Muellner *et al.* (2020; 2021).

Material and methods

Plant material and Marker-Assisted Selection (MAS)

In total, 82 genotypes consisting of breeding lines, released varieties, notified Organic Heterogeneous Material (OHM), and plant genetic resources were tested in Tulln, Austria. Additionally, 33 and 9 genotypes of this nursery were tested in Prague, Czech Republic, and Fundulea, Romania, respectively (Table 1; Fig. 2). Most multi-parent breeding lines contain line S5.58 (Blizzard/Rainer), a few additionally lines P101.30 (Bonneville/Rainer) or P106.24 (Rainer/PI119333) (Muellner *et al.*, 2020; 2021). F_1 's of initial crosses with a resistance donor were back-crossed to another elite variety and hybrids thereof were screened by KASP markers for the heterozygous presence of resistance QTL described by Muellner *et al.* (2020; 2021). Selected plants were further crossed between each other and the hybrids thereof were screened in another MAS cycle for the homozygous presence of resistance QTL. Selected plants were self-pollinated and multiplied for field screening.

Artificial inoculation

Wheat seeds were inoculated with common bunt teliospores before sowing. In Tulln, the seeds were inoculated with an isolate sourced from a susceptible ‘Tilliko’ stand. In Prague, isolate RUKR, a mixture of local common bunt strains, was used. Similarly, in Fundulea an isolate mixture sourced from six sites was utilized.

Observations

At ripening (*i.e.*, soft to hard dough stage; BBCH85 - BBCH87), the percentage of bunted spikes was determined by cutting the spikes of the inoculated rows with secateurs (Fig. 1). Additionally, in Tulln 50 spikes per plot were harvested at maturity which were further analysed in the lab for the percentage of infected grains (bunt sori). In this process, also the percentage of partially infected spikes was evaluated.

Results and discussion

Genotype by isolate interaction

As resistance to common bunt is race specific (gene-for-gene interaction), the wheat-bunt interaction is characterized by genetic specificity (Hoffman, 1982). In the present study, the Austrian isolate was more aggressive, followed by the Czech and Romanian isolate, as demonstrated by the varieties which were grown on two and three locations and inoculated with local isolates of common bunt. For example, 'Ursita' showed 36.7% infected spikes in Tulln, however, only 10.4% and 2% in Prague and Fundulea, respectively (Fig. 2). 'Tilliko', source of the Austrian isolate, had 24% infected spikes in Tulln, but was resistant in Prague (Fig. 3a). A similar interaction was observed for 'Graziaro', 'Ursita' and breeding line BTX561-7K. 'IS Laudis', 'PS Dobromila' and 'Unitar' were grouped comparatively in Austria and Romania, whereas 'Glosa', 'Mv Karej', and 'Mv Kolompos' were more susceptible in the Austrian experiment. Noteworthy is also the reaction of varieties carrying the *Bt10* resistance gene (*i.e.*, 'Tillexus' and 'Tillstop'). This resistance gene was still effective against the RUKR-isolate (Fig. 3a), but not against the Austrian Tilliko-isolate which confirms earlier observations (Oberforster & Plank, 2021).



Figure 1 Double-row test plots and cut infected spike in Tulln 2021. In total 75 spikes per row were evaluated (*i.e.*, 50 on the field, 25 in the lab) resulting in 150 spikes per entry.

Partially infected spikes

Generally, a high correlation ($r=0.93$) was observed between the percentage of infected spikes and the percentage of bunt sori (Fig. 3b). However, a few genotypes (*e.g.*, 'Unitar', 'Spontan', 'Genius' and breeding lines including the latter two varieties) showed a

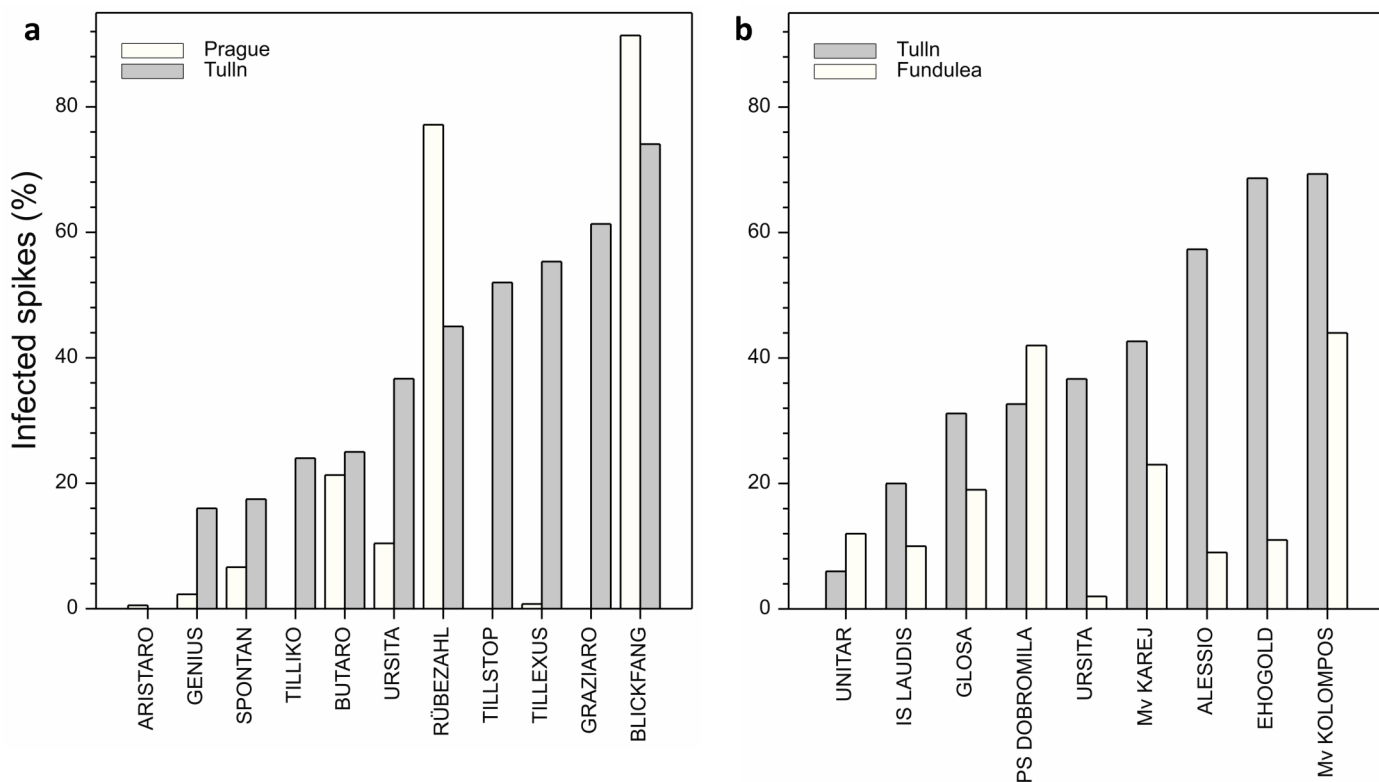


Figure 2 Susceptibility to common bunt of selected winter wheat varieties from the ECOBREED diversity panel: **a** Percentage of infected spikes in the experiments in Tulln and Prague; and **b** in Tulln and Fundulea. 'Ursita' was included in all three test sites.

Table 1 Susceptibility of winter wheat to common bunt in Tulln 2021 (CB%, percentage of infected spikes of 150 evaluated spikes; CBS%, percentage of bunt sori of the total number of grains of 50 evaluated spikes) and their resistance QTL

Genotype	QTL ¹	CB%	CBS%	Genotype	QTL	CB%	CBS%
BTX516-6K	1B, 7D	0.0	0.0	Heerup		21.3	20.0
BTX521-1G	1B, 7D	0.0	0.0	Creator		22.0	19.2
BTX559-4	1A?, 1B	0.0	0.0	Tilliko		24.0	32.4
Aristaro		0.0	0.0	BTX522-N0543K		24.7	20.0
UI SRG		0.0	0.0	Butaro		25.0	12.2
BTX522-4G	1A, 7D	0.7	0.0	BTX527-N0539bK		26.7	19.4
BTX559-14G	1A?, 1B?, 7D	0.7	0.0	BTX517-N0532aG		28.7	13.1
Deloris		1.0	0.0	BTX516-N0547K		30.7	14.7
BTX518-8G	1B, 7D	1.3	0.1	BTX528-4G	1B?	30.7	27.8
702-1102C		2.0	0.0	Glosa		31.2	15.6
BTX534-5K	7A, 7D	2.0	0.9	PS Dobromila		32.7	29.9
BTX516-10G	1A, 1B	2.7	3.2	BTX561-7K	1B?	33.2	8.4
BTX517-N0532aK		3.3	2.3	BTX522-N0543G		36.2	20.2
BTX516-11G	1A, 1B	5.3	2.5	Ursita		36.7	13.2
BTX521-N0533aG		5.6	5.1	Pizza		38.7	32.8
BTX517-11K	1A, 1B	6.0	1.4	Viki		39.0	47.2
BTX559-9G	1B?, 7A, 7D	6.0	4.3	BTX561-N0540aK		40.7	36.6
Unitar		6.0	0.1	Wendelin		41.3	56.7
BTX521-11K	1A?, 1B	7.3	4.6	Mv Kárej		42.7	26.9
BTX521-14K	1A, 7D	7.3	2.9	Rübezahl		45.0	31.8
BTX516-5K	1A, 7D	7.4	2.8	Skagit 1209		46.2	29.2
BTX516-N0547G		8.0	7.7	Red Russian		49.3	57.0
BTX517-10	1A	8.7	9.1	Royal		50.7	55.2
BTX518-N0533bK		9.3	5.2	Tillstop		52.0	70.1
BTX527-5	1A?, 1B	10.0	11.9	BTX534-N0548bK		55.3	34.9
SEC261-05		10.0	3.1	Tillexus		55.3	76.8
BTX522-6GUF	1A, 1B	11.3	2.6	Alessio		57.3	72.0
BTX527-N0539aG		12.0	4.8	Brandex		58.0	42.8
BTX534-3	1A, 1B?	12.0	8.4	Sheriff		58.0	83.0
BTX528-11GK	1A, 1B?	13.2	2.3	Skagit 1109		60.0	60.8
BTX561-N0540aG		13.3	6.4	Graziaro		61.3	74.8
BTX561-8G	1B?	15.3	7.4	Wital		62.0	51.9
BTX521-3K	1A?, 1B?, 7D	15.9	15.8	Tengri		63.3	59.0
BTX518-11G	1A, 7D	16.0	5.1	Tobias		64.0	36.3
BTX534-7K	1B?, 7D	16.0	7.6	BTX518-3K	1A, 7D	66.0	52.8
Genius		16.0	5.3	Ehogold		68.7	67.7
BTX528-N0544G		17.3	6.2	Mv Kolompos		69.3	66.2
Spontan		17.5	4.4	Purino		71.3	60.5
BTX521-N0533bK		18.7	10.0	Blickfang		74.1	76.8
IS Laudis		20.0	17.1	Wiwa		77.9	88.6
BTX527-12	1A?, 1B	20.7	14.8	Annie		81.3	81.6

¹ present QTL according to two cycles of MAS; donor of resistance QTL was in all BTX lines cv. 'Blizzard' with the exception of BTX534-3 and BTX534-7K where the resistance QTL on chromosomes 1A and 1B could have also been derived from cv. 'Bonneville'.

high percentage of partially infected spikes, and therefore a lower percentage of bunt sori compared to the percentage of infected spikes (Table 1). Partially infected wheat grains were reported by Gassner (1938). Hansen (1958) explained partially infected grains by the fact that the ovule is fertilized before the fungus' invasion. The transformation of the integuments to the testa forms an

effective barrier against the further spread of the pathogen. In the present study, healthy-looking grains of partially infected spikes were not checked in detail, however, it was observed that the bunt sori were located more or less randomly within the spike which would disagree with a resistance mechanism against the systematic invasion of the apex.

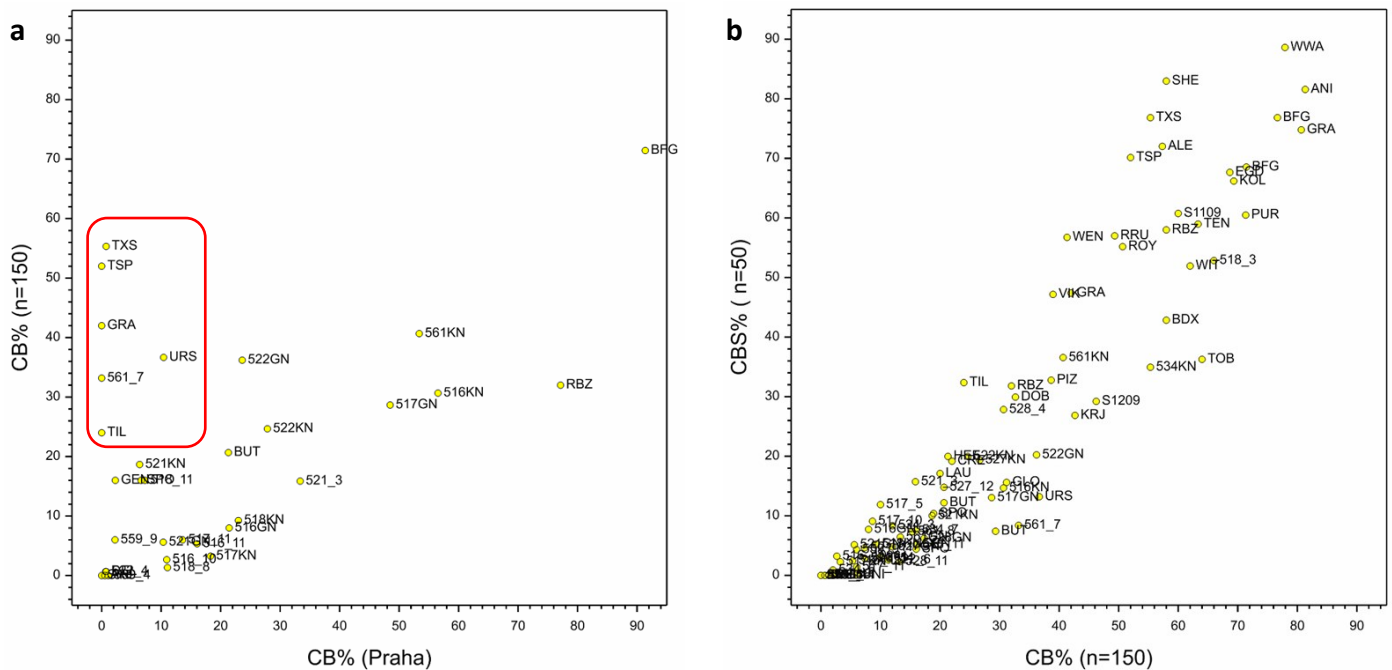


Figure 3 Common bunt in ECOBREED winter wheat germplasm: **a** Percentage of common bunt infected spikes (CB%) in Tulln 2021 vs. Prague (Praha) 2021 (GRA, Graziario; TIL, Tilliko; TSP, Tillstop; TXS, Tillexus; URS, Ursita); **b** Percentage of infected spikes (CB%) vs. percentage of bunt sori (CBS%) in Tulln 2021.

Resistance QTL

From Table 1 it is obvious that breeding lines with one or more resistance QTL were more resistant to common bunt than breeding lines without any of the QTL followed by MAS. With respect to the individual QTL it has to be considered that *Qbt-ifa.7DS* from ‘Blizzard’ was associated only with dwarf bunt and not common bunt in the study of Muellner *et al.* (2021). Hence, it is assumed that the presence of this QTL had no effect on the performance of the breeding lines against common bunt. Some lines without any resistance QTL (e.g., BTX517-N0532aK and BTX521-N0533aG) showed a low susceptibility to common bunt. The resistance of these lines is probably the result of additive effects of involved parents such as ‘Genius’ and ‘Spontan’. ‘Genius’ is also a parent of ‘Tillsano’ which showed a low to medium susceptibility against various common bunt races in Austria (AGES, 2021; Ritzer *et al.*, 2022). On the other hand, also Muellner *et al.* (2021) observed some lines of both the mapping and validation populations with low bunt incidence despite having none of the three resistance QTL from the donors ‘Blizzard’ or ‘Bonneville’ (i.e., *Qbt.ifa-1AL*, *Qbt.ifa-1BS*, *Qbt.ifa-7AL*). It is noteworthy that *Qbt.ifa-1AL* and *Qbt.ifa-1BS*, as well as *Qbt.ifa.7DS* were detected in many breeding lines, whereas *Qbt.ifa-7AL* is present in only two lines. PI 119333, donor of *Bt12*, was involved in 4 BTX-lines, however, the respective QTL *Qbt.ifa-7D/Bt12* (Muellner *et al.*, 2020) was not detected in any of these lines. As discussed by Muellner *et al.* (2021) it remains unclear whether *Qbt.ifa-7D/Bt12*, *Qbt.ifa.7DS* and/or *Q.DB.ui-7DS* (Chen *et al.*, 2016) represent the same resistance allele.

Like in the study of Muellner *et al.* (2021), lines with only one common bunt QTL were as resistant as lines with two. Hence, epistatic interactions seem to be substantial for common bunt resistance and were confirmed by various other studies (Knox *et al.*, 2013; Chen *et al.*, 2016; Singh *et al.*, 2016). As also outlined by Muellner *et al.* (2021), none of the applied markers is diagnostic

for a bunt resistance QTL, but only linked to the QTL. Their value might vanish by ongoing recombination. This might explain the high susceptibility of BTX518-3K despite that *Qbt.ifa-1AL* was detected in this line.

Conclusions

The first screening for common bunt resistance revealed that the applied KASP markers allowed a targeted introgression of resistance QTL from US varieties ‘Blizzard’ and ‘Bonneville’, known for their high and durable resistance, into European winter wheat germplasm. Due to the complex pedigree of the tested lines, additional resistance alleles might be present which could not be followed due to the unavailability of molecular markers. Some genotypes showed only partially infected spikes resulting in a trade-off between bunt incidence (i.e., percentage of infected spikes) and percentage of bunt sori in the grain yield. This resistance response needs further confirmation and investigation.

Acknowledgements

This work received funding from the European Union’s Horizon 2020 research and innovation program under grant agreement No 771367 (ECOBREED).

References

AGES (2021) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2021 Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2021, p 94. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES), Wien.

- Borgen A (2004) Organic seed treatment to control common bunt (*Tilletia tritici*) in wheat. Seed Testing International 128: 8-9.
- Chen J, Guttieri MJ, Zhang J, Hole D, Souza E, Goates B (2016) A novel QTL associated with dwarf bunt resistance in Idaho 444 winter wheat. Theor Appl Genet 129: 2313-2322. DOI: 10.1007/s00122-016-2783-2
- Gassner G (1938) Über Partialinfektionen von Weizenkörnern durch *Tilletia* und die Entstehung der Steinbrandbutten. Phytopath Z 11: 451-468.
- Gopal S, Sekhon KS (1988) Effect of Karnal bunt disease on the milling, rheological and nutritional properties of wheat: Effect on the quality & rheological properties of wheat. J Food Sci 53: 1558-1559. DOI: 10.1111/j.1365-2621.1988.tb09323.x
- Goates BJ, Bockelman H (2012) Identification of new sources of high levels of resistance to dwarf bunt and common bunt among winter wheat Landraces in the USDA-ARS National Small Grains Collection. Crop Sci 52: 2595-2605. DOI: 10.2135/cropsci2012.01.0060
- Hoffman JA (1982) Bunt of wheat. Plant Dis 66: 979-987. DOI: 10.1094/PD-66-979
- Knox RE, Campbell HL, Depauw RM, Gaudet D, Puchalski B, Clarke FC (2013) DNA markers for resistance to common bunt in "McKenzie" wheat. Can J Plant Path 35: 328-337. DOI: 10.1080/07060661.2013.763292
- Laroche A, Demeke T, Gaudet DA, Puchalski B, Frick M, McKenzie R (2010) Development of a PCR marker for rapid identification of the *Bt-10* gene for common bunt resistance in wheat. Genome 43: 217-223. DOI: 10.1139/g99-113
- Mathre DE (2000) Stinking smut (common bunt) of wheat. Plant Health Instructor (update 2005). DOI: 10.1094/PHI-I-2000-1030-01
- Muellner AE, Eshonkulov B, Hagenguth J, Pachler B, Michel S, Buerstmayr M, et al. (2020) Genetic mapping of the common and dwarf bunt resistance gene *Bt12* descending from the wheat landrace PI119333. Euphytica 216: 83. DOI: 10.1007/s10681-020-02614-w
- Muellner AE, Buerstmayr M, Eshonkulov B, Hole D, Michel S, Hagenguth JF, et al. (2021) Comparative mapping and validation of multiple disease resistance QTL for simultaneously controlling common and dwarf bunt in bread wheat. Theor Appl Genet 134: 489-503. DOI: 10.1007/s00122-020-03708-8
- Oberforster M, Plank M (2021) Susceptibility of winter wheat cultivars to various isolates of common bunt (*Tilletia caries*). LIVESEED Practice Abstract 62.
- Preugschat K, Kersten S, Ettl T, Richter W, Karl H, Breves G, et al. (2014) Effects of feeding diets containing increasing proportions of bunt-infected wheat (*Tilletia caries*) on performance and health of pigs. Arch Anim Nutr 68: 55-62. DOI: 10.1080/1745039X.2014.881065
- Ritzer E, Ehn M, Oberforster M, Buerstmayr H (2022) Comparison of pathogenicity of Austrian isolates of *Tilletia caries* on common wheat (*Triticum aestivum*), pp 75-76 of this issue.
- Singh A, Knox RE, DePauw RM, Singh AK, Cuthbert RD, Kumar S, et al. (2016) Genetic mapping of common bunt resistance and plant height QTL in wheat. Theor Appl Genet 129: 243-256. DOI: 10.1007/s00122-015-2624-8
- Steffan PM, Torp AM, Borgen A, Backes G, Rasmussen SK (2017) Mapping of common bunt resistance gene *Bt9* in wheat. Theor Appl Genet 130: 1031-1040. DOI: 10.1007/s00122-017-2868-6
- Wang S, Knox RE, DePauw RM, Clarke FR, Clarke JM, Thomas JB (2009) Markers to a common bunt resistance gene derived from 'Blizzard' wheat (*Triticum aestivum* L.) and mapped to chromosome arm 1BS. Theor Appl Genet 119: 541-553. DOI: 10.1007/s00122-009-1063-9
- Wiik L (2021) Control of common bunt in organic wheat cultivation. XXI International Workshop on Bunt and Smut Diseases, 5-6 May, Tulln an der Donau, Book of Abstracts, p 24.