

Pyramiding von Resistenzgenen gegen das Zucchini Gelbmosaikvirus in Ölkürbis (*Cucurbita pepo*)

Martin Pachner^{1*} und Tamas Lelley¹

Abstract

A catastrophic virus epidemic in 1997 led to considerable crop failure in Styrian oil pumpkin (*Cucurbita pepo*) which possessed no resistance to the Zucchini Yellow Mosaic Virus (ZYMV). The aim of the here described work was, to combine several resistances against the virus in the Austrian oil pumpkin breeding material. At the beginning we used American zucchini varieties containing resistance genes from the *C. moschata* landrace Nigerian Local. Later an Israeli zucchini breeding line, the resistance of which originated from the *C. moschata* landrace Menina, Portugal, was also used. In the meantime, through crossing experiments, we identified five different resistance genes against ZYMV in the species *C. moschata*. Later, we transferred all these *C. moschata* resistances into oil pumpkin. After having generated oil pumpkin lines for each resistance and developed molecular markers (RAPD, SCAR and SSR) for three of the resistance genes, in a „Pyramiding“ programme, we brought together four resistance genes in one oil pumpkin genotype.

Key words: ZYMV, RAPD, SCAR, SSR, *Cucurbita moschata*

Zusammenfassung

Eine katastrophale Virusepidemie im Jahr 1997 hat im steirischen Ölkürbis (*Cucurbita pepo*), der keine Resistenz gegen das Zucchini Gelbmosaikvirus (ZYMV) besaß, zu erheblichen Ernteaussfällen geführt. Ziel des hier beschriebenen Vorhabens war, mehrere Resistenzen gegen das Virus im österreichischen Ölkürbiszuchtmaterial zusammenzuführen. Am Beginn unserer Arbeiten verwendeten wir amerikanische Zuchinisorten, die Resistenzgene aus der nigerianischen Landsorte Nigerian Local (*Cucurbita moschata*) besaßen. Später kam eine israelische Zucchini Linie hinzu, deren Resistenz auf die *C. moschata* Landrasse Menina, aus Portugal, zurückgeht. In der Zwischenzeit identifizierten wir, in umfangreichen Untersuchungen, in der Art *C. moschata* fünf verschiedene Resistenzgene gegen ZYMV.

Anschließend übertrugen wir alle diese Resistenzen, durch Brückenkreuzungen mit Zucchini, in Ölkürbis. Nachdem wir für jede Resistenz Ölkürbis-Linien erzeugten und für drei der Resistenzgene molekulare Marker (RAPD, SCAR und SSR) entwickeln konnten, gelang es uns in einem „Pyramiding“-Programm vier Resistenzgene in einen Ölkürbis-Genotyp zusammenzuführen.

Einleitung

Im Jahr 1997 verursachte das Zucchini Gelbmosaikvirus (ZYMV) in Österreich Ernteaussfällen bis zu 50%. Die Epidemie zeigte, dass die österreichischen Ölkürbissorten keine genetisch bedingte Resistenz gegen das Virus besaßen. Jedoch war genetisch bedingte Virusresistenz in der Art *Cucurbita pepo* auch nicht bekannt, daher wurden solche Gene bereits in den 1980er Jahren durch Artkreuzungen aus *C. moschata* in Zucchini übertragen (WHITAKER and ROBINSON 1986, PROVVIDENTI 1997).

Pyramiding von Resistenzgenen ist eine aussichtsreiche Strategie, die Selektion neuer Virusstämme zu verzögern und beständigere Resistenzen zu erzeugen. Diese Methode wurde bei Getreidearten aber auch bei dicotylen Arten wie z.B. Bohnen und Paprika erfolgreich angewendet (WERNER et al. 2005).

Bereits am Anfang unserer Arbeit haben wir beobachtet, dass ZYMV-Isolate aus verschiedenen geografischen Regionen, wie Singapur, Italien und Österreich unterschiedliche

Symptome und Aggressivität an Ölkürbispflanzen zeigten. Diese offensichtliche, genetische Variabilität des Virus birgt die Gefahr, dass eine monogenische Resistenz, von dem Pathogen rasch überwunden werden könnte. Demnach war das Vorhaben, den Ölkürbis mit multipler Resistenz gegen ZYMV auszustatten, nahe liegend. Wir konnten jedoch zunächst feststellen, dass alle von uns getesteten *C. moschata* Resistenzquellen ausreichende Resistenz gegen alle von uns getesteten Isolate hatten. Im Weiteren, haben wir umfangreiche Kreuzungsexperimente mit anschließenden Spaltungsanalysen in künstlichen Infektionstests durchgeführt, um die genetische Struktur der Resistenz in *C. moschata* zu ermitteln. Dabei haben wir in den von uns untersuchten fünf *C. moschata* Genotypen zumindest fünf ZYMV-Resistenzgene eindeutig identifizieren können (PACHNER and LELLEY 2004).

Diese Untersuchungsergebnisse eröffneten uns die Möglichkeit den steirischen Ölkürbis mit einer Mehrfachresistenz gegen potentiell gefährliche ZYMV-Stämme auszustatten.

¹ Universität für Bodenkultur Wien, Department Interuniversitäres Forschungsinstitut für Agrarbiotechnologie IFA-Tulln, Institut für Biotechnologie in der Pflanzenproduktion, Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN

* Ansprechpartner: Ing. Martin PACHNER: martin.pachner@boku.ac.at

Material und Methoden

Als Ölkürbis Ausgangsmaterial verwendeten wir die beiden traditionellen österreichischen Sorten Gleisdorfer Ölkürbis und Retzer Gold. Die toleranten amerikanischen Zucchiniorten Tigress, Jaguar und Puma haben wir von der Fa. Harris Moran Seed Company, Davis California, Dividend und Revenue von Novartis Seeds, Inc. Naples, Florida bezogen. Die auf ZYMV-Resistenz selektierte *C. moschata* Landrassen Menina 15 aus Portugal und Nigerian Local aus Afrika wurden uns von M. Pitrat, INRA, Frankreich, und Soler aus Puerto Rico von Linda Wessel-Beaver, Univ. Puerto Rico, zur Verfügung gestellt. Die ZYMV-anfällige *C. moschata*-Sorte Waltham Butternut und die für die Artkreuzungen *C. pepo* x *C. moschata* verwendete Brücke, die israelische Zucchini Linie True French res., erhielten wir von H.S. PARIS, Neue Ya'ar Research Center, Israel. Diese Sorte enthält zwei bis drei Resistenzgene, ein dominantes Hauptgen, *Zym-1*, und zwei Modifikatorgene, *Zym-2* und *Zym-3*, gegen ZYMV aus der portugiesischen Landrasse Menina die in die Zucchini-Sorte True French übertragen wurden (PARIS and COHEN 2000),

Die Pflanzen für die künstlichen Infektionen wurden im Glashaus unter kontrollierten Bedingungen (23-25°C Tag, 20-22°C Nacht, 50-70% RF, Zusatzbelichtung mit Metallampflampen für 14 Std. Tag) gehalten. Für die Infektionen verwendeten wir ein ZYMV Mischisolat, das aus mehreren Einzelisolaten, die an verschiedenen österreichischen Standorten gesammelt wurden, zusammengefügt war (RIEDLE-BAUER 1998). Das Homogenat wurde, kurz vor der Infektion, aus gefrorenen (-20°C) infizierten Blättern, mit einer 1%igen K_2HPO_4 Lösung als Inokulationspuffer, und Celite® 545, um die Blattoberfläche zu verwunden, in einem Mörser auf Eis hergestellt. Die Infektionen erfolgten durch Aufreiben des Homogenats zunächst auf die beiden Keimblätter und 3 Tage später auf das erste Laubblatt.

Die Symptome wurden 10 bzw. 24 Tage nach Infektion ausgewertet. Zur Klassifizierung der Pflanzen als resistent oder anfällig verwendeten wir ein Skala von 0-9, wobei 0 als nicht infiziert, 1-4 als tolerant und 6-9 als anfällig bewertet wurde. Die Bonitur 5 stellt eine nicht eindeutig zuordenbare Übergangssituation dar. Es soll festgehalten werden, nachdem die Grenze zwischen Resistenz und Toleranz nicht klar definierbar ist, sprechen wir von leichter bis hin zu tolerabler Symptomausprägung von einer Resistenz.

Für die Markeranalysen wurden, zu Beginn der Untersuchungen, in einer Bulk Segregant Analyse, 1000 RAPD-Primer (Random Amplified Polymorphic DNA)

getestet. Wir fanden zunächst 24 Marker, deren Auftreten mit dem Resistenzgen *Zym-1* (Men1-Resistenz) und 5 Marker, mit *Zym-2* (Men2-Resistenz) (PARIS and COHEN 2000) korrelierten (98% bzw. 95%). Je ein RAPD Marker wurde mittels Reamplifizierung und Sequenzierung der Bande in einen SCAR-Marker (Sequence Characterized Amplified Region) umgewandelt. In einer Sammlung von 500 *Cucurbita*-spezifischer SSR-Markern, die im Rahmen eines FWF-Projektes an unserem Institut entwickelt wurden (GONG et al. 2008), fanden wir einen mit dem Resistenzgen *Zym-0* (NL2-Resistenz) (PARIS and BROWN 2005) sehr eng gekoppelten (>99%) Marker.

Die Einführung der *C. moschata* ZYMV-Resistenzgene in Ölkürbis durch Artkreuzung hat zu vier verschiedenen Resistenzen mit insgesamt fünf wirksamen Resistenzgenen geführt. Sie sind in *Tabelle 1* beschrieben.

Ergebnisse und Diskussion

Das erste Resistenz-Gen gegen das ZYMV haben wir aus amerikanischen Zucchiniorten in den steirischen Ölkürbis eingekreuzt. Dieses Gen stammte aus der nigerianischen *C. moschata* Landsorte Nigerian Local. Es zeigte gute Resistenz gegen einige ZYMV-Virusstämme (PROVVIDENTI 1997). Die zweite Resistenz haben wir aus einer israelischen Zucchini Linie in den Ölkürbis eingekreuzt, sie stammte ursprünglich aus der *C. moschata* Landrasse Menina aus Portugal (PARIS and COHEN 2000). Die Ausprägung von Reaktionssymptomen war jedoch nach künstlicher Infektion mit unserem ZYMV-Isolat bei diesen beiden Genotypen klar unterscheidbar. Diese Beobachtung veranlasste uns dazu, umfangreiche Kreuzungsexperimente und Spaltungsanalysen in künstlichen Infektionsversuchen durchzuführen, um die genetische Struktur dieser Resistenzen in *C. moschata* zu untersuchen, aber auch um eventuell weitere Resistenzgene in *C. moschata* zu finden. Letztendlich fanden wir in *C. moschata* fünf Resistenzgene (PACHNER and LELLEY 2004). Wir haben danach alle von uns identifizierten Resistenzen aus *C. moschata* in Ölkürbis eingekreuzt. Da sich Ölkürbis nicht direkt mit *C. moschata* kreuzen lässt, mussten wir Brückenkreuzung mit Zucchini durchführen.

Für unseren ersten Pyramidingversuch standen uns zunächst das dominante Resistenzgen *Zym-1* aus Menina und das von uns identifizierte rezessive *zym-4* aus Nigerian Local zur Verfügung, aber nur für *Zym-1* hatten wir einen molekularen Marker. Somit war eine eindeutige Selektion von homozygoten doppelresistenten Pflanzen in der F2 nicht möglich. Daher haben wir für die Erzeugung der F2-Nachkommen-

Tabelle 1: Resistenzgene gegen ZYMV. Die Gensymbole beziehen sich auf die Genliste von PARIS and BROWN (2005). Das Resistenzgen *Zym-3* konnten wir in unserem Zuchtprogramm nicht identifizieren; für die NL1-Resistenz wurde noch kein Gensymbol vergeben, im Text wird dafür *zym-4* verwendet. Für die fett gedruckten Resistenzgene konnten gekoppelte Marker identifiziert werden.

Resistenz	Gensymbol	Quelle	Erbverhalten	
			beschrieben in Literatur	in Ölkürbis
Men1	<i>Zym-1</i>	Menina	dominant	dominant
Men2	<i>Zym-2</i>	Menina	ergänzender dominanter Modifikator zu <i>Zym-1</i>	
Men3	<i>Zym-3</i>	Menina	ergänzender dominanter Modifikator zu <i>Zym-1</i>	
NL1	(<i>zym-4</i>)	Nigerian Local	unvollständig dominant	rezessiv
NL2	<i>Zym-0</i>	Nigerian Local	dominant	dominant
Sol	<i>zym^{mos}</i>	Soler	rezessiv	unvollständig dominant

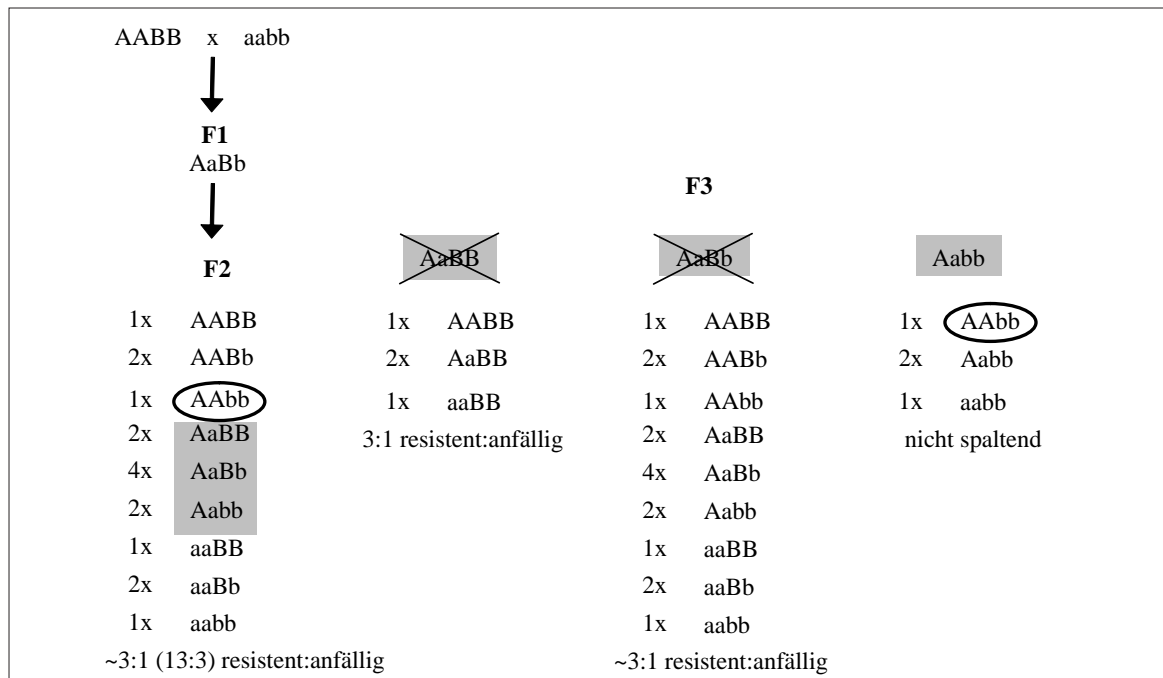


Abbildung 1: Zur Darstellung steht AA für die dominante Men1-Resistenz (*Zym-1*, markerselektiert) und bb für die rezessive NL1-Resistenz (*zym-4*, kein Marker). In der F2 können die doppelt homozygoten Pflanzen (eingekreist) nicht eindeutig identifiziert werden, weil die tolerant Pflanzen in Bezug auf ihre genetische Struktur nicht ausreichend unterscheidbar sind. Nur eine von drei möglichen F3-Populationen, deren Mutterpflanzen (F2) mit Marker auf Aa selektiert wurden (grau unterlegt) wird keine phänotypische Spaltung für die Resistenz zeigen (ganz rechts), weil darin alle Pflanzen für die NL1-Resistenz homozygot (bb) sind. Der Menina-Marker ermöglicht anschließend, aus dieser Population die homozygot doppelresistenten Genotypen auszulesen.

schaften (F3-Populationen) jene F2-Pflanzen ausgewählt, die mit dem Marker für *Zym-1* als heterozygot identifiziert werden konnten. Nur in einer von drei möglichen F2-Nachkommenschaften war keine phänotypische Spaltung für die Resistenz zu erwarten, weil darin alle Pflanzen für die NL1-Resistenz (*zym-4*) homozygot sind (Abbildung 1). Der Menina-Marker ermöglichte anschließend, aus dieser F3-Population die homozygot doppelresistenten Genotypen zu selektieren.

Da die beiden Resistenzen, *Zym-1* und *zym-4*, aufgrund spezifischer Reaktionssymptome nach künstlicher Infektion unterscheidbar sind, war es möglich die Anwesenheit des Resistenzgens *zym-4* aufgrund der für diese Resistenz spezifischen Symptome festzustellen. Das Vorhandensein des Resistenzgens *Zym-1* konnte anhand des molekularen Markers sichergestellt werden. Somit konnten wir, bereits in einem Infektionstest an der F2, Pflanzen identifizieren, die das Resistenzgen *zym-4* trugen und den Marker für *Zym-1* hatten. Dadurch konnten wir die Anzahl der potentiellen F3-Populationen deutlich einschränken.

Die erzeugten Pyramidingpopulationen, in denen die beiden Resistenzgene *Zym-1* und *zym-4* kombiniert sind, wurden in der F5-Generation einem Infektionstest unterzogen. Aus drei F3-Populationen sind 13 Linien hervorgegangen (Pyr-1a, b u. c in Tabelle 2), die bereits einen deutlich erhöhten Grad an Resistenz mit einem Boniturmittelwert von 2,8 aufwiesen. Die resistente Ölkürbislinie nur mit *zym-4* zeigte ein Boniturmittel von 4,5, die mit *Zym-1* einen Wert von 4,0 (Tabelle 2).

In unserem zweiten Pyramidingexperiment konnten wir bereits drei Resistenzgene kombinieren, da wir für zwei davon (*Zym-1* und *Zym-2*) molekulare Marker zur Verfügung hatten. Auch in diesem Versuch standen uns, für die Überprüfung im Infektionstest, 13 Linien aus drei F3-Populationen zur Verfügung. Die drei Resistenzgene lassen sich in verschiedenen Kombinationen zusammenfügen. Linien, die das dominante Resistenzgen *Zym-1* in Kombination mit dem rezessiven Gen *zym-4* besitzen (Pyr-2a in Tabelle 2), sind als Wiederholung des ersten Versuchs zu betrachten und unterscheiden sich von diesem auch in ihren Boniturmitteln nicht.

Linien mit der Kombination der drei Resistenzgene *Zym-1*, *Zym-2* und *zym-4* (Pyr-2c) erreichten erwartungsgemäß den höchsten Grad an Resistenz (Boniturmittel 2,2).

Interessanterweise erreichten Linien, die das rezessive Resistenzgen *zym-4* in Kombination mit dem Modifikatorgen *Zym-2* besitzen (Pyr-2b), ebenfalls ein besseres Resistenzniveau (3,4) als die Ausgangslinie Ölk. NL1-Res (4,5) mit *zym-4*. Genotypen mit dem Resistenzgen *Zym-2* bei Abwesenheit von *Zym-1* sind anfällig, da *Zym-2* nur als ergänzender Modifikator zu *Zym-1* wirkt. Hier wurde die Wirkung eines Resistenzgens aus Nigerian Local (*zym-4*) durch ein Modifikatorgen aus Menina (*Zym-2*) verstärkt (Tabelle 2).

In weiteren Versuchen gelang es uns schließlich vier Resistenzgene in einem Genotyp zu kombinieren.

Pflanzen aus Pyr-3, mit den beteiligten Resistenzgenen *Zym-1*, *Zym-2*, *zym-4* und *zym^{mos}*, erreichten in einem ersten

Tabelle 2: Mittlere Boniturwerte der verwendeten Resistenzquellen und den daraus entstandenen Zuchtlinien. Die Klassifizierung der Symptome erfolgte unter Verwendung einer Skala von 0-9, wobei Pflanzen mit der Boniturnote 0 als nicht infiziert, 1-4 als resistent und 6-9 als anfällig bewertet wurden. Die Boniturnote 5 stellt eine nicht eindeutig zuordenbare Übergangssituation dar.

Genotyp	Resistenzgen(e)	Boniturmittel
Nigerian Local	<i>Zym-0</i> + <i>zym-4</i>	0,5
Menina 15	<i>Zym-1</i> (+ <i>Zym-2</i> + <i>Zym-3</i>)	2
Soler	<i>zym^{mos}</i>	3
Ölkürbis	keine	7,4
Zucchini Tigress	<i>zym-4</i>	4,5
Ölk. NL1-Res	<i>zym-4</i>	4,5
Zucchini TRF res.	<i>Zym-1</i> + <i>Zym-2</i> + <i>Zym-3</i>	4
Ölk. Men1-Res	<i>Zym-1</i> (+ <i>Zym-2</i> + <i>Zym-3</i> ?)	4
Ölk. Sol-Res	<i>zym^{mos}</i> (+ <i>Zym-3</i> ?)	2,5
Ölk. NL2-Res	<i>Zym-0</i> + <i>zym-4</i>	1,7
Pyr-1a	<i>Zym-1</i> + <i>zym-4</i>	2,8
Pyr-1b	<i>Zym-1</i> + <i>zym-4</i>	2,7
Pyr-1c	<i>Zym-1</i> + <i>zym-4</i>	2,8
Pyr-2a	<i>Zym-1</i> + <i>zym-4</i>	2,7
Pyr-2b	<i>Zym-2</i> + <i>zym-4</i>	3,4
Pyr-2c	<i>Zym-1</i> + <i>Zym-2</i> + <i>zym-4</i>	2,2
Pyr-3	<i>Zym-1</i> + <i>Zym-2</i> + <i>zym-4</i> + <i>zym^{mos}</i>	2,5
Pyr-4	<i>Zym-1</i> + <i>Zym-2</i> + <i>Zym-0</i> + <i>zym-4</i>	1,5

Infektionstest ein dem ersten Versuch mit zwei kombinierten Resistenzgenen vergleichbares Resistenzniveau (2,5). Wenn man berücksichtigt, dass *zym-4* und *zym^{mos}* rezessive Resistenzgene sind, und diese erst im homozygoten Zustand voll zur Ausprägung kommen, kann man erwarten, dass sich das Resistenzniveau nach einer Selbstung noch weiter verbessert.

Pflanzen aus Pyr-4, mit den beteiligten Resistenzgenen *Zym-1*, *Zym-2*, *zym-4* und *Zym-0*, erreichten das bisher höchste Resistenzniveau (1,5 Tabelle 2). Auch in dieser Kombination ist noch eine Steigerung zu erwarten, wenn *zym-4* im homozygoten Zustand voll zur Ausprägung kommt.

Markerselektierte F2-Pflanzen der beiden zuletzt beschriebenen Kreuzungskombinationen, sowie F1-Pflanzen einer Zweifachhybride (mit allen fünf Resistenzgenen) konnten wir bisher nur am Feld beobachten. Es hat sich jedoch schon dabei gezeigt, dass diese Pflanzen ein sehr hohes Resistenz-

niveau haben, sie blieben über die gesamte Vegetationsperiode symptomfrei. Alle anderen Pflanzen am gleichen Feld, wiesen ein ihrer genetischen Konstitution entsprechendes Krankheitsbild auf, alle diese Pflanzen entwickelten mehr oder weniger starke Virussympptome.

Schlussfolgerungen

Die Ergebnisse unserer hier vorgestellten Untersuchungen zeigen, dass die Kombination mehrerer ZYMV-Resistenzgene in Ölkürbis einen additiven Effekt hat. Während Ölkürbislinien mit nur einem Resistenzgenen einen mittleren Boniturwert von 4,5 haben, erreichen Genotypen mit vierfacher Resistenz die Durchschnittsnote von 1,5.

Danksagung

Die Arbeiten wurden vom BMLFUW und später in Kooperation mit der Saatzucht Gleisdorf GmbH im Rahmen mehrerer Forschungsprojekte (FFF und FFG) finanziert.

Literatur

- GONG, L., STIFT, G., KOFLER, R., PACHNER, M. and LELLEY, T., 2008: Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L., Theor. Appl. Genet. 117, 37-48.
- PACHNER, M. and T. LELLEY, 2004: Different genes for resistance to zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) in *Cucurbita moschata*. In: A. Lebeda and H.S. Paris (eds.), Progress in Cucurbit Genetics and Breeding Research. Proc. *Cucurbitaceae* 2004. Palacky Univ., Olomouc, Czech Republic. pp, 237-243.
- PARIS, H.S. and R.N. BROWN, 2005: The genes of pumpkin and squash, HortScience 40, 1620-1630.
- PARIS, H.S. and S. COHEN, 2000: Oligogenic inheritance for resistance to zucchini yellow mosaic virus in *Cucurbita pepo*, Ann. Appl. Biol. 136, 209-214.
- PROVVIDENTI, R., 1997: New American summer squash cultivars possessing a high level of resistance to strains of zucchini yellow mosaic virus from China, Cucurbit Genet. Coop. Rep. 20, 57-58.
- RIEDLE-BAUER, M., 1998: Ölkürbis & Co.: Was tun gegen das Zucchini gelbmosaikvirus? Der Pflanzenarzt 4, 1-4.
- WERNER, K., W. FRIEDT and F. ORDON, 2005: Strategies for Pyramiding Resistance Genes Against the Barley Yellow Mosaic Virus Complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2), Mol. Breeding 16, 45-55.
- WHITAKER, T.W. and R.W. ROBINSON, 1986: Squash breeding, Breeding Vegetable Crops, M. J. Bassett, ed. AVI Publishing Co, pp, 209-242.

Züchtung eines neuen Körneramaranthgenotyps - Vorgangsweise und Ergebnisse Breeding of a new genotype of grain amaranth - methodology and results

Georg Dobos¹ und Daniela M. Gimplinger²

Abstract

Grain amaranth is a niche crop which deserves closer attention due to its valuable grain components. When introducing a new crop, genotypes adapted to regional growing conditions have to be developed. This is especially evident with respect to seed maturation and plant dry down of a warm-season crop grown in a region with a temperate climate.

In Austria, the breeder G. DOBOS started breeding of amaranth in 1986. A huge variability of amaranth entries from several gene banks was available. Breeding targets were set in the following order of priority: early grain maturation, dry down of the plant, rapid juvenile growth, reduced plant height, resistance to lodging, large seed size and high popping quality. Single-plant selection resulted in the medium-late genotype AMAR which yielded well but did not show satisfying plant dry down, suitability for mechanical harvest and seed size. As seed maturation and plant dry down could not be improved by selection, cross breeding was started. This breeding program resulted in the genotypes NEUER TYP and ANDERER TYP.

Field experiments were carried out under semiarid conditions in Eastern Austria between 2002 and 2005. The objective was to compare the genotypes NEUER TYP, ANDERER TYP and AMAR (developed by Dobos) and the genotype MITTLERER TYP (developed by Baji, Tapioszele, Hungary). The developed lines differed with respect to plant height (70-170 cm), temperature sum from sowing to harvest (2000-2700°Cd), grain moisture at harvest (21-38%), thousand seed weight (0.6-1.0 g), content of crude protein (15.2-18.6%) and crude fat (5.4-8.6%), and harvestable grain yield (1600-3000 kg ha⁻¹ dry matter). The genotype NEUER TYP was characterised by reduced plant height (70-100 cm), early plant dry-down (after a temperature sum of 2000-2200°C) and early seed maturation with reduced seed moisture at harvest (21-24%), satisfying seed size and thousand seed weight (0.9-1.0 g dry matter) and high harvestable yield (1800-3000 kg ha⁻¹ dry matter).

Keywords: grain amaranth, breeding, yield, maturity, quality

Einleitung

Botanik und Verwendung

Amaranthus-Arten, die zur Familie der Fuchsschwanzgewächse gehören, können als Körnerfrüchte, als Gemüse oder als Zierpflanzen genutzt werden, hochwüchsige Formen auch als Futter- und Energiepflanzen. Für die Körnernutzung, die in diesem Beitrag behandelt wird, werden folgende Arten herangezogen: *A. hypochondriacus*, *A. cruentus* und *A. caudatus*. Wie Buchweizen (*Fagopyrum esculentum*) und Quinoa (*Chenopodium quinoa*) wird Körneramaranth zu den „Pseudocerealien“ gezählt, weil seine kohlehydratreichen Körner ähnlich wie Getreide verwendet werden.

Amaranth als „Alternativkultur“ in Österreich

Mit der Züchtungsarbeit, wozu im weiteren Sinne auch die Prüfung von über 100 Herkünften gehörte, begann Dobos bereits 1986 (DOBOS 1992, DOBOS 1997). Anlass dafür war eine Anfrage aus der Industrie bzw. die Entwicklung des

Marktes, der sich damals für neue Pflanzen und Produkte öffnete. Das Interesse für „gesunde Ernährung“ rückte auch Amaranth-berechtigerweise - durch den Proteingehalt (13-19%) mit hohem Anteil an essentiellen Aminosäuren (vor allem an Lysin), durch das wertvolle Öl (5-8%) und durch den hohen Gehalt an Ca, Mg und Fe sowie Ballaststoffen ins Rampenlicht. Darüber hinaus bietet Amaranth aufgrund seiner Glutenfreiheit für Zöliakiekranken eine Alternative zu Getreideprodukten. Es entstand eine Marktnische - bis heute ist Amaranth ein Nischenprodukt geblieben - und gleichzeitig die Nachfrage nach Saatgut für den Anbau unter österreichischen Bedingungen.

Zuchtziele

Amaranthherkünfte weisen eine Reihe an Eigenschaften auf, die für Wildpflanzen charakteristisch sind. Eigene Untersuchungen an verschiedenen Herkünften (siehe Linienzüchtung) führten zur Formulierung von Zuchtzielen mit folgender Priorität: frühe Kornreife, Abreife der Pflanzen, niedriger Wuchs, Standfestigkeit, rasche Entwicklung nach dem Aufgang, großes Korn und gutes Popverhalten. Weitere Zuchtziele umfassen einen höheren Proteingehalt

¹ ZENO PROJEKTE, Veterinärmedizinische Universität Wien, Institut für Angewandte Botanik und Pharmakognosie, Veterinärplatz 1, A-1210 WIEN

² Universität für Bodenkultur, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Gregor-Mendel-Straße 33, A-1180 WIEN

* Ansprechpartner: Dr. Georg DOBOS: zenoprojekte@aon.at



Abbildung 1: Variabilität innerhalb einer Herkunft

und einen hohen Gehalt an essentiellen Aminosäuren, Ausfallfestigkeit des Kornes, Kältetoleranz und einen geringen Verzweigungsgrad des Fruchtstandes.

Züchtungsmethodik

Prüfung von Herkünften - Linienzüchtung

Dank verschiedener Genbanken, vor allem dank des Rodale Research Centers (USA), stand eine sehr große genetische Variabilität zur Verfügung, sowohl zwischen den Herkünften als auch innerhalb der Herkünfte (Abbildung 1). Bei den Herkünften handelte es sich zumeist um Landsorten, teilweise aber auch um aus gezielter Kreuzungszüchtung hervorgegangene Sorten. Somit war es nahe liegend, mit einer Einzelpflanzenauslese und Pedigree-Züchtung zu beginnen, um ein möglichst rasches Ergebnis zu erzielen. Die Variabilität im Blühbeginn erstreckte sich von früh bis sehr spät, wobei einige wenige Kurztagpflanzen keinen (vor allem *A. caudatus* aus Südamerika) oder geringen Samenansatz zeigten.

Es wurde sehr bald klar, dass Amaranth als „Halbkulturpflanze“ unter Bedingungen des gemäßigten Klimas nicht abreift. Als erstes Ergebnis entstand die Selektion AMAR, ein *A. cruentus* des sogenannten „Mexikanischen Typs“, mit der 1989 die Produktion von einigen ha Amaranth begonnen werden konnte (Abbildung 2). Als mittelspäter Genotyp bewährte er sich vor allem im nördlichen Weinviertel, wo bei geeigneten pflanzenbaulichen Maßnahmen wie hoher Bestandesdichte und Wahl von trockenen Standorten mit leichten, eher mageren Böden eine Abreife erreicht werden konnte, die allerdings sehr spät, oft erst im November, erfolgte. Die späte Ernte führte häufig zu einem Zusammenbruch der Bestände und zu einer Verschlechterung der Kornqualität. In den folgenden Jahren wurde AMAR jährlich auf bis zu 100 ha eingesetzt und diente in Züchtungsversuchen als Standardsorte. Bei entsprechendem Management und guter Trocknung kann ein qualitativ wertvolles Korn geerntet werden, das sich zum Aufpoppen eignet. Dagegen bereiten die langsame Anfangsentwicklung, die deutlich durch die

Temperatur bestimmt wird, und der Konkurrenzdruck durch Unkrautamaranth große Schwierigkeiten in der Produktion, die dadurch auch mit viel Handarbeit verbunden ist. Die Abreife und der Druschzeitpunkt sind von der Witterung abhängig und variieren stark von Jahr zu Jahr.

Kreuzungszüchtung -

Entwicklung des Genotypes NEUER TYP

Trotz der hohen vorliegenden genetischen Vielfalt konnte bis 1998 keine Verbesserung des Abreifeverhaltens erzielt werden. Daher wurde nun mit der Kreuzungszüchtung begonnen. Die Mutterpflanze des neuen Zuchtprogrammes war eine extrem früh blühende Einzelpflanze, die in einer aufspaltenden späten Herkunft auftrat. Solche „Frühblüher“ treten relativ oft in Herkünften auf, sind aber als reine Linien ungeeignet, weil sie stark zu Lagerung neigen und nicht leistungsfähig im Ertrag sind.

Als Pollenspender diente eine spätreife und hochwüchsige, aber standfeste Selektion mit sehr großen Samen. Die Kreuzung wurde im Glashaus mit zu unterschiedlichen Zeitpunkten gesäten Pflanzen durchgeführt. Aufgrund eines Markers wurde die nachfolgende F_1 -Generation ausgelesen.



Abbildung 2: Genotyp AMAR

Tabelle 1: Herkunft und Eigenschaften von angepassten Genotypen

Genotyp	Art	Herkunft	Wuchshöhe (cm)	Form	Fruchtstand	Farbe
NEUER TYP	<i>Amaranthus hypochondriacus</i>	Kreuzung	70-100	stark verzweigt		grün
ANDERER TYP	<i>Amaranthus hypochondriacus</i>	Keuzung	80-140	apikale Dominanz		grün
MITTLERER TYP	<i>Amaranthus hypochondriacus</i>	Kreuzung (B. Baji, Inst. for Agrobotany, Tapioszele, Ungarn)	120-170	locker mit apikaler Dominanz		orange/rot
AMAR	<i>Amaranthus cruentus</i>	Selektion aus RRC 1041 (Rodale Research Center)	120-170	apikale Dominanz		grün

Tabelle 2: Saattermin, Temperatursumme (Basis = 0°C), Vegetationstage bis zur Ernte und Kornfeuchte zur Ernte (Feldversuche zwischen 2002 und 2005)

Genotyp	Saattermin	Temperatursumme (Saat bis Ernte) (°C d)	Vegetationstage (Saat bis Ernte)	Kornfeuchte zur Ernte (%)
NEUER TYP		1950-2200	92-117	21-24
ANDERER TYP	29. April -	2100-2300	109-119	22-24
MITTLERER TYP	27. Mai	2350-2550	110-129	27-28
AMAR		2400-2700	117-145	30-38

Zunächst lag der Schwerpunkt der Selektion auf rot pigmentierten Linien, bis sich herausstellte, dass unpigmentierte Pflanzen deutlich besser abreifen und größere Samen mit einem besseren Popverhalten bilden.

Durch eine Abfolge von mehreren Generationen im Glashaus konnte nach etwa 3 Jahren (etwa F7) die Sorte NEUER TYP fertig gestellt werden, die sich auch im Anbau bewährt hat: Dieser Genotyp reift - je nach Umweltbedingungen - bereits im August oder aber spätestens Ende September ab. Er zeichnet sich durch gutes Popverhalten und durch ein hohes Tausendkorngewicht aus (siehe Tabelle 3). Im praktischen Anbau erreicht er mit durchschnittlich etwa 2000 kg ha⁻¹ den Ertrag von AMAR, weist geringere Körnerverluste und deutlich niedrigere Kornfeuchten (siehe Tabelle 2) bei der Ernte auf. Im NEUEN TYP traten vereinzelt Pflanzen mit unverzweigten Fruchtständen auf. Diese führten zur Selektion ANDERER TYP.

Prüfung ausgewählter Genotypen im Feldversuch

In den Jahren 2002 bis 2005 wurden an der Versuchswirtschaft der Universität für Bodenkultur in Groß-Enzersdorf

Körneramaranthgenotypen in unterschiedlichen Saaddichten geprüft. Ziel war es, das Abreifeverhalten, das Ertragspotential, den Ernteindex, den maschinell erntbaren Ertrag sowie die Kornzusammensetzung verschiedener Genotypen zu vergleichen. Untersucht wurden die von Dobos entwickelten Genotypen NEUER TYP, ANDERER TYP und AMAR sowie der Genotyp MITTLERER TYP aus Tapioszele in Ungarn (GIMPLINGER et al. 2008).

Ergebnisse: Abreife, Ertrag und Qualität

Die Genotypen unterschieden sich in morphologischen Eigenschaften (Tabelle 1), im Abreifeverhalten (Tabelle 2), im Ertrag (Tabelle 3) und in der Kornzusammensetzung (Tabelle 4). Der stark verzweigende NEUE TYP stellte sich als besonders kurzwüchsig heraus (70-100 cm), wodurch die maschinelle Ernte erleichtert wird. Der ANDERE TYP zeigte eine mittlere Wuchshöhe, während der rot blühende MITTLERE TYP und AMAR eine Bestandeshöhe bis zu 170 cm erreichten.

Der Zeitpunkt der Kornreife und die Abreife der Pflanzen variierten stark zwischen den geprüften Versuchsgliedern: Der NEUE TYP als der frühreifste Genotyp konnte etwa nach einer Wärmesumme von 2000°C geerntet werden, die

Tabelle 3: Kornertrag, Ernteindex and Kornertragskomponenten (Mittel über fünf Pflanzendichten)

Jahr	Genotyp	Kornertrag* (Handernte) (g TM m ⁻²)	Kornertrag* (Drusch) (g TM m ⁻²)	Ernteindex	Beobachtete Dichte (Pfl. m ⁻²)	Kornzahl pro Pflanze	TKG* (g TM)
2002	NEUER TYP	239 a	181 b	0.39 a	8-135	16000 a	0.96 a
	MITTLERER TYP	219 a	156 c	0.26 b	7-86	21900 a	0.63 b
	AMAR	216 a	238 a	0.25 b	6-119	20000 a	0.66 b
2003	NEUER TYP	282 a	306 a	0.26 a	9-58	13500 b	1.04 a
	MITTLERER TYP	215 a	215 c	0.18 b	9-34	29800 a	0.55 b
	AMAR	289 a	277 b	0.18 b	10-36	23700 a	0.67 b
2004	NEUER TYP	295 a	252 a	0.38 a	10-80	16500 b	0.86 a
	ANDERER TYP	204 b	209 b	0.26 b	9-82	11700 c	0.83 a
	AMAR	290 a	264 a	0.27 b	8-92	22000 a	0.60 b
2005	NEUER TYP	241 a	222 a	0.37 a	7-54	16200 b	0.91 a
	ANDERER TYP	201 b	207 ab	0.31 b	8-63	12100 b	0.89 a
	AMAR	235 a	173 b	0.25 c	8-52	24300 a	0.59 b

* Trockenmasse

SNK, P=0.05 (ANOVA pro Jahr)

Tabelle 4: Kornzusammensetzung

Jahr	Genotyp	Rohprotein (N x 6.25) (%)	Rohfett (%)	Rohfaser (%)	Asche (%)	Kohlehydrate (%)
2002	NEUER TYP	15.76 b	6.08 c	3.77 a	3.12 ab	71.27 a*
	MITTLERER TYP	18.55 a	7.29 b	4.22 a	3.23 a	66.71 b
	AMAR	16.39 b	8.60 a	3.96 a	3.04 b	68.01 b
2003	NEUER TYP	15.22 c	5.40 c	3.94 a	2.73 b	72.72 a
	MITTLERER TYP	17.55 a	6.64 b	4.10 a	2.99 a	68.71 c
	AMAR	15.79 b	7.35 a	3.54 a	2.71 b	70.61 b

* SNK, P = 0.05 (ANOVA pro Jahr)

unter den gegebenen Bedingungen im Osten Österreichs etwa Ende August erreicht wurde. Zum Erntezeitpunkt lag die Kornfeuchte zwischen 21 und 24%. Der ANDERE TYP blühte etwa eine Woche später als der NEUE TYP, zeigte aber ein ähnliches Abreifeverhalten. Der MITTLERE TYP reifte etwa zwei Wochen später, der mittelspäte AMAR konnte erst nach einer Wärmesumme von mehr als 2400°C geerntet werden. Diese Summe wurde am Standort etwa Anfang bis Mitte Oktober erreicht. Zu diesem Zeitpunkt war der Bestand noch immer nicht abgetrocknet, und die Kornfeuchte lag zwischen 30 und 38%. Ein Nachrocknen des Erntegutes war also in allen Fällen notwendig, erforderte aber beim NEUEN TYP einen geringeren Energieaufwand und führte zu höherer mikrobiologischer Qualität (GIMPLINGER et al. 2007).

Von Hand geerntete Erträge der Genotypen schwankten zwischen 2000 und 3000 kg ha⁻¹ Kornertrag (Trockenmasse). Der frühreife NEUE TYP und der mittelspäte AMAR erreichten das gleiche Ertragsniveau, zeigten sich aber den anderen Prüfgliedern überlegen. Die Druscherträge lagen zwischen 1600 und 3000 kg ha⁻¹ (Trockenmasse).

Auch hier wurde der Ertragsvorteil von den Genotypen AMAR und NEUER TYP deutlich. Kornverluste vor und während des Druschvorganges - berechnet als die Differenz zwischen Handernte- und Druscherträgen - lagen im Mittel bei 8%, waren aber stark von Umweltbedingungen abhängig und variierten zwischen 0 und 29%.



Abbildung 3: Vergleich der Abreife der Genotypen AMAR und NEUER TYP

Der kurzwüchsige NEUE TYP zeigte einen deutlich höheren Ernteindex (bis zu 0.38) als die anderen Genotypen. Bei der Analyse der Ertragskomponenten wurde deutlich, dass sich die Pflanzen nicht nur im Korngewicht, sondern auch in der Kornzahl pro Pflanze unterscheiden. Während sich der NEUE TYP und der ANDERE TYP durch große, schwere Körner mit einem Tausendkorngewicht von beinahe 1 g (Trockenmasse) auszeichneten, zeigten der MITTLERE TYP und AMAR nur ein Tausendkorngewicht um 0.6 g (Trockenmasse). Der hohe Kornertrag des NEUEN TYP basierte auf großen, schweren Körnern, während der hohe Ertrag von AMAR durch eine größere Kornzahl pro Pflanze zustande kam.

Der Rohproteingehalt variierte zwischen 15 und 19%, der Gehalt an Rohfett zwischen 5 und 9%. Der kleinkörnige MITTLERE TYP zeigte den höchsten Rohproteingehalt, der kleinsamige AMAR den höchsten Rohfettgehalt. Beim Vergleich von drei Genotypen ging eine zunehmende Korngröße mit einem reduzierten Proteingehalt und einem höheren Gehalt an Kohlehydraten einher. Zunehmende Korngröße ist offensichtlich vor allem mit einer Zunahme des stärkereichen Perisperms verbunden.

Schlussfolgerung

Zusammenfassend zeigte besonders der NEUE TYP eine Reihe an agronomischen Vorteilen: Der Genotyp ist niedrigwüchsig und reift früh ab, was den Mähdrusch erleichtert. Er zeigt ein ähnliches Ertragspotential wie der mittelspäte AMAR, bietet aber den Vorteil von deutlich geringerer Kornfeuchte bei der Ernte. Darüber hinaus zeichnen sich die Samen durch ein hohes Tausendkorngewicht und ein gutes Popverhalten aus.

Literatur

- DOBOS, G., 1992: Körneramaranth als neue Kulturpflanze in Österreich. Einführung und züchterische Aspekte. PhD-thesis, University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna.
- DOBOS, G., 1997: Züchterische Bearbeitung von Körneramaranth, Quinoa und Wintermohn unter Berücksichtigung der im Laufe der Einführung auftretenden Fragen. Forschungsprojekt L 819/93. Institute of Applied Botany, University of Veterinary Sciences, Vienna.
- GIMPLINGER, D.M., G. SCHULTE auf'm ERLEY, G. DOBOS and H.-P. KAUL, 2008: Optimum crop densities for potential yield and harvestable yield of grain amaranth are conflicting. *European Journal of Agronomy* 28, 119-125.
- GIMPLINGER, D.M., G. DOBOS, R. SCHÖNLECHNER, H.-P. KAUL, 2007: Yield and quality of grain amaranth (*Amaranthus* sp.) in Eastern Austria. *Plant, Soil and Environment* 53, 105-112.

Züchtung von chinesischen Heilpflanzen für den heimischen Anbau

Heidi Heuberger^{1*} und Ulrich Bomme¹

Abstract

Breeding work on several medicinal plant species used in the traditional Chinese medicinal therapy (TCM) and cultivated in Germany was started in 2004. The breeding work aims to improve the available seed provenances for yield, homogeneity and quality of the raw materials. In addition to selection and field testing, basic questions related to flowering and fertilization had to be answered as well as methods for vegetative propagation had to be developed.

Keywords: breeding, chemical constituents, Chinese medicinal plants, homogeneity, winter hardiness

Einleitung

Anwendung chinesischer Heilpflanzen in Deutschland

Heilpflanzen spielen in der Traditionellen Chinesischen Medizin (TCM) eine zentrale Rolle. Mittlerweile wenden etwa 3000 speziell ausgebildete deutsche Ärzte (und andere Heilberufe) die chinesische Arzneimitteltherapie an, Tendenz steigend. Großhändler versorgen spezialisierte Apotheker mit importierter Ware, die die ärztlichen Verordnungen mischen und als Rezepturarzneimittel herstellen. Der Import der Rohdrogen (getrockneter Pflanzenteile) vieler bei uns meist unbekannter Pflanzen aus Asien bereitet aber häufig Qualitäts- und Beschaffungsprobleme (9) - vor allem im Hinblick auf eine gut dokumentierte „Entstehungsgeschichte“, wie sie heute bei westlichen Arzneipflanzen wie Pfefferminze oder Baldrian Standard ist. Durch einen Anbau von Heilpflanzen mit definierter Herkunft unter kontrollierten und dokumentierten Bedingungen können die Arzneimittelsicherheit und die allgemeine Qualität des Drogenmaterials wesentlich verbessert werden. Gleichzeitig soll der Umfang des deutschen Heil- und Gewürzpflanzenanbaus durch die Schaffung neuer Anbaumöglichkeiten erweitert und der Raubbau an den Naturstandorten in China reduziert werden (8).

Interdisziplinäres Projekt seit 1999

Um chinesische Arzneipflanzen unter kontrollierten Bedingungen anbauen zu können, beschäftigt sich die Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) unter der Leitung von Prof. BOMME seit 1999 mit der systematischen Anbauforschung von 19 ausgewählten Arten.

Eingebunden in das Projekt sind der Bereich Pharmakognosie des Instituts für Pharmazeutische Wissenschaften der Karl-Franzens-Universität Graz (Prof. BAUER), der Bereich Systematische Botanik des Department Biologie I der Ludwig-Maximilians-Universität München (LMU, Prof. HEUBL), die Gesellschaft für die Dokumentation von Erfahrungsmaterial der Chinesischen Arzneitherapie (DECA, Dr. FRIEDL), die Kliniken SiLiMa (Riedering, Dr. FRIEDL) und Am Steigerwald (Gerolzhofen, Dr. SCHMINCKE), die „Internationale Gesellschaft für Chinesische Medizin“ (Societas Medicinae Sinensis, SMS, Dr. HUMMELBERGER) sowie die Firma Saat-zucht Steinach (Steinach, Dr. EICKMEYER). Die Firmen PhytoLab (Vestenbergsgreuth, Dr. KABELITZ, Dr. SCHMÜCKER) und Kräuter Mix (Abtswind, Dr. TORRES-LONDONO) führen seit 2004 umfangreiche vergleichende Untersuchungen zur Qualität und Sensorik an importierten und aus Versuchsanbau stammenden Drogen durch.

Für acht der Arten konnten die Anbauverfahren so weit entwickelt werden, dass im Arzneipflanzenanbau versierte Landwirte seit 2005 diese TCM-Drogen in Bayern für TCM-Handelsfirmen erzeugen (3). Hierzu steht jeweils eine Saatgutherkunft zur Verfügung, deren botanische Identität gesichert ist, und die einen guten Ertrag und Inhaltsstoffgehalt aufweist.

Diese Saatgutherkünfte besitzen jedoch noch weitgehend ihren Wildpflanzencharakter, was sich u.a. in der Variabilität des Pflanzenmaterials ausdrückt. Zudem führten die pflanzenbaulichen Maßnahmen nicht bei allen Arten zum ausreichenden Erfolg. Daher wurde 2004 bei *Artemisia scoparia*, *Astragalus mongholicus*, *Bupleurum chinense*, *Leonurus japonicus*, *Salvia miltiorrhiza* (seit 2007) und *Saposhnikovia divaricata* (seit 2008) der Weg der Pflanzenzüchtung beschritten, an dessen Ende verbesserte Sorten den heimischen Anbau wirtschaftlicher oder sogar erst möglich machen sollen (vgl. *Tabelle 1*).

Vorgehensweise und Ergebnisse

Ausgangsmaterial

Die Grundvoraussetzungen erfolgreicher Züchtung sind aussichtsreiches Pflanzenmaterial, das die gewünschten Eigenschaften enthält, sowie das Wissen über die Blüh- und Befruchtungsverhältnisse der Pflanzenart, damit das Zuchtverfahren zielführend gestaltet werden kann. Zur Erweiterung des Ausgangsmaterials wurden, zusätzlich zu den schon vorhandenen Saatgutherkünften aus den

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Arbeitsgruppe Heil- und Gewürzpflanzen, Vöttinger Straße 38, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Dr. Heidi HEUBERGER: heidi.heuberger@LfL.bayern.de

Tabelle 1: Ziele für die züchterische Bearbeitung ausgewählter chinesischer Heilpflanzen

Pflanzenart	Zuchtziele	Verwendetes Pflanzenteil
<i>Artemisia scoparia</i>	Niedriger Cadmiumgehalt, hoher Ertrag, Homogenität	Blätter
<i>Astragalus mongholicus</i>	Hoher Ertrag bei einjähriger Kultur, dicke Wurzeln, hoher Astragalosid IV-Gehalt	Wurzeln
<i>Bupleurum chinense</i>	Winterhärte - dadurch zweijährige Kultur und höherer Ertrag (Art noch nicht im Praxisanbau)	Wurzeln
<i>Leonurus japonicus</i>	Homogenität des Blühbeginns, hoher Ertrag, Winterhärte für zweijährigen Anbau	Kraut, bei Blühbeginn
<i>Salvia miltiorrhiza</i>	Krankheitstoleranz, Ertrag, Homogenität in Blütenbildung, wenig Feinwurzeln	Wurzeln
<i>Saposhnikovia divaricata</i>	Winterhärte und zuverlässige Blüte im zweiten Jahr für Saatgutproduktion, schnelle und gute Keimung	Wurzeln

Forschungsarbeiten zur Inkulturnahme, weitere Akzessionen vor allem von Genbanken und von Wildstandorten zusammengetragen und auf ihre botanische Identität und prinzipielle Eignung für die Züchtung untersucht.

Durchführung

Die Feldversuche wurden auf den Versuchstationen Bau mannshof (Lkr. Pfaffenhofen) und Puch (Lkr. Fürstenfeldbruck) der LfL, sowie auf Versuchsfeldern der Saatzucht Steinach (Lkr. Straubing) durchgeführt. Die Vermehrung der Pflanzen, molekularbiologische Untersuchungen und Gehaltsbestimmungen erfolgten in den Arbeitsgruppen IPZ 1a, 5c, 3d und AQU 2 der LfL, sowie bei den Partnern an der LMU, Universität Graz und im Labor von PhytoLab.

Blüh- und Befruchtungsbiologie

Für die zweite Voraussetzung, das Wissen über die Blüh- und Befruchtungsverhältnisse, müssen bei den chinesischen Heilpflanzen, im Gegensatz zu einer alten Kulturart wie Weizen, die wichtigsten Fragen der Fortpflanzungsbiologie erst noch geklärt werden, z.B. ob es sich um Fremd- oder Selbstbefruchter handelt, wann die Herkünfte blühen oder wodurch die Blütenbildung induziert werden kann. Es ist zwar anzunehmen, dass dieses Wissen in China teilweise besteht, jedoch war es für uns nicht zugänglich. Durch die Kontrolle der Bestäubungsmöglichkeiten (frei, ohne Insekten oder isoliert) wurde festgestellt, dass auf Grund des deutlich höheren Saatgutertrags aller Arten bei ungehinderter Bestäubung, sowie des starken Insektenbesuchs bei *Astragalus*, *Bupleurum*, *Leonurus*, *Salvia* und *Saposhnikovia* und der Blütenmorphologie von *Artemisia* die Fremdbefruchtung überwiegt. Für *Artemisia* konnte die nahezu vollständige Fremdbefruchtung mit Hilfe polymorpher Banden (AFLP) nachgewiesen werden (6).

Synthetische Sorte aus Klonen

Als Züchtungsverfahren wurde die Entwicklung einer synthetischen Sorte auf der Basis von Klonen gewählt, das bei der Züchtung an *Arnica montana* bereits erfolgreich eingesetzt wurde (2, 4). *Artemisia* und *Salvia* können gärtnerisch über Stecklinge vermehrt werden, für *Leonurus* und *Astragalus* war nur die *in-vitro* Vermehrung über Nodien-segmente mit einem eigens für diese Arten entwickelten Protokoll möglich (1).

Im ersten Schritt wurden vor allem aus Beständen der ursprünglich vorhandenen Saatgutherkünfte Elitepflanzen mit besonderen, gewünschten Eigenschaften selektiert und geklont. Um Zeit zu sparen, wurden die Klone von *Artemisia*, *Leonurus* und *Astragalus* im Polycross geprüft und

gleichzeitig gekreuzt. Diese Anlageform bedeutet zwar die perfekte Randomisierung für die Klonprüfung, der Arbeitsaufwand für die Bonituren war jedoch sehr groß. Außerdem ging auch Pollen von weniger geeigneten Klonen in die Pollenwolke ein. Dennoch kann anhand der F_1 -Nachkommen die allgemeine Kombinationseignung der Klone geprüft werden, wenn auch auf etwas niedrigerem Leistungsniveau. Für neu selektierte Klone von *Astragalus* und für *Salvia* werden auf Grund des Arbeitsaufwands Klonprüfung und Klonkreuzung wieder nacheinander durchgeführt.

Bei der Klonprüfung zeigten z.B. die 42 Klone von *Artemisia scoparia* eine große Variationsbreite im Cadmiumgehalt von 0,24 bis 0,96 mg Cd/kg Droge und im Gehalt an Ätherischem Öl von 0,13 bis 1,09 %. Einige Klone wiesen sowohl einen niedrigen Cd-Gehalt als auch einen hohen Ätherischölgehalt auf. Außerdem bildeten bei *Astragalus mongholicus* einige Klone schon im ersten Jahr besonders große und dicke Wurzeln aus. Für weitere Details sei auf die Forschungsberichte des Projekts (5, 7) verwiesen.

Aktuell werden die zweijährigen Leistungsprüfungen der Klon-Nachkommen von *Leonurus*, *Astragalus* und *Artemisia* an zwei Standorten durchgeführt. Bei allen Arten scheinen günstige Linien im Sortiment enthalten zu sein. Das Zuchtziel Winterhärte wird bei *Leonurus* jedoch nicht zu erreichen sein, da insgesamt nicht ausreichend Pflanzen überwintern, um im Folgejahr das Unkraut effektiv zu unterdrücken.

Populationsverbesserung durch Individualauslese

Bupleurum konnte zunächst nicht vegetativ vermehrt werden, daher wurde bei dieser Art und bei *Saposhnikovia* (beides Arten der *Apiaceae*) der Weg zur Populationsverbesserung mittels Prüfung der Einzelpflanzennachkommenschaften eingeschlagen. Beide Arten bilden bei der Isolation von Einzelpflanzen keine Samen aus. Der Einsatz von Stubenfliegen führte bei isolierten *Bupleurum*-Einzelpflanzen jedoch zum Samenertrag. Dieses Verfahren muss bei *Saposhnikovia* noch getestet werden.

Bei der Prüfung von S_1 -Nachkommenschaften der *Bupleurum*-Eliten starben bereits im Sommer viele Pflanzen ab. Es werden Inzuchtdepressionen vermutet, eventuell lagen auch Saatgutprobleme vor. Anhand des in 2008 im Gewächshaus neu erzeugten S_1 -Saatguts von *Bupleurum* soll überprüft werden, ob die Ausfälle durch die Saatgutqualität bedingt waren. Überlebende und schließlich überwinterte kräftige S_1 -Einzelpflanzen werden im kommenden Jahr gekreuzt (Ramschverfahren), um den Grundstein für eine neue Population zu legen.

Ausblick

Die Züchtungsarbeiten werden noch einige Jahre andauern. Bei den meisten Arten ist Potenzial zur Entwicklung einer verbesserten Sorte vorhanden. Ob künftig von den Landwirten Nachfrage nach solchen Sorten bestehen wird, hängt maßgeblich vom Gesamterfolg der Markteinführung von in Deutschland produzierten TCM-Drogen ab.

Danksagung

Bei allen, die durch ihre Mitarbeit und Unterstützung zu den Ergebnissen beigetragen haben, bedanken wir uns herzlich! Stellvertretend für viele andere gilt dieser Dank allen oben genannten Projektpartnern, sowie Herrn BAUMANN, Dr. DANIEL, Frau FUCHS, Herrn GASTL, Herrn HÖCK, Herrn GEISSENDÖRFER, Frau KÄRNER, Frau KLEIDORFER, Frau KOLLMANNSBERGER, Dr. LEPSCHY, Herrn MAYR, Frau PAWLOWSKI, Frau REGENHARDT, Frau REUS, Herrn RINDER, Frau SCHANZE, Herrn SCHMIDMEIER, Frau SCHUMANN, Frau SCHWAIGER, Dr. SEEFELDER und Frau WAHL. Gedankt sei abschließend auch dem Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten und der Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe (FNR, FKZ 22019707) für die großzügige finanzielle Förderung der Forschungsvorhaben, sowie den Firmen PhytoLab und Saatzucht Steinach.

Literatur

1. BAUMANN, A. und G. DANIEL, 2008: In vitro-Vermehrung von vier Arzneipflanzen der traditionellen chinesischen Medizin. SuB 1-2, III-4-7.
2. BOMME, U., 2000: Anbau und Züchtung von *Arnica montana*. Zeitschrift für Phytotherapie 21, 52.
3. BOMME, U., 2007: Integratives Forschungs- und Beratungsmanagement bei der Einführung ausgewählter chinesischer Heilpflanzen in die heimische Produktion. SuB 12, III-8-14.
4. BOMME, U. und G. DANIEL, 1994: Erste Untersuchungsergebnisse zur Auslesezüchtung bei *Arnica montana* L. Gartenbauwiss. 59 (2), 67-71.
5. BOMME, U., H. HEUBERGER und G. DANIEL, G. 2007: Abschlussbericht zur Fortführung des Forschungsvorhabens „Inkulturnahme und Etablierung neuer Heilpflanzenarten, die in der traditionellen chinesischen Medizin (TCM) eingesetzt werden. 151 S. Internetdokument, Abruf am 20.11.2008: http://www.lfl.bayern.de/ipz/heilpflanzen/16992/ab_min_chin_06_internet.pdf
6. HEUBERGER, H., U. BOMME und S. SEEFELDER, 2008: Erste Ergebnisse zur Befruchtungsbiologie von *Artemisia scoparia* Waldst. & Kit. Tagungsband 5. Fachtagung Arznei- und Gewürzpflanzen, 18.-21.2. 2008 in Bernburg. Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau Sachsen-Anhalt, Bernburg: 18-19.
7. HEUBERGER, H. und U. BOMME, 2008: Erste züchterische Bearbeitung und Qualitätsbeurteilung ausgewählter chinesischer Heilpflanzen, die für den Anbau in Deutschland geeignet sind. Schlussbericht des Forschungsvorhabens. Internetdokument, Abruf am 20.11.2008: <http://www.lfl.bayern.de/ipz/heilpflanzen/16992/abschlussbericht.pdf>
8. HUMMELSBERGER, J., U. BOMME und F. FRIEDL, 2006: Chinesische Arzneipflanzen - Anbau hierzulande garantiert Qualität. Deutsches Ärzteblatt 103, 21, A1442-A1443.
9. IHRIG, M., 2004: Qualitätsmängel bei TCM-Drogen. Pharmazeutische Zeitung 149, 3776-3783.

Keimfähigkeit, Triebkraft und Feldaufgang bei Hirse

Benno Voit^{1*}, Stephanie Wutz², Sebastian Kunz³, Albrecht Roller⁴,
Ewald Sticksel¹ und Berta Killermann¹

Einleitung

Der Energiepflanzenanbau hat in den letzten Jahren deutlich zugenommen. Der Mais nimmt dabei eine dominierende Rolle ein. Zur Auflockerung dieser Energiepflanzenfruchtfolge ist Hirse eine interessante Alternative, weil sie ähnlich hohe Erträge pro ha liefert wie Mais. Hirse gehört zu den C4-Pflanzen und stellt damit hohe Ansprüche an Temperatur und Licht. Die Mindestkeimtemperatur liegt bei 12 °C und ist damit höher als bei Mais (10 °C). Der hohe Temperaturanspruch beeinflusst den Feldaufgang wesentlich. Es stellt sich daher die Frage, ob ein Prüfverfahren im Saatgutlabor entwickelt werden kann mit dem sich der Feldaufgang vorhersagen lässt.

In Deutschland ist Hirse nicht im Artenverzeichnis des Saatgutverkehrsgesetzes (SaatG) enthalten, d.h. für Hirsesaatgut gelten keine Mindestanforderungen für Keimfähigkeit, Reinheit, etc.. In der EU Richtlinie für Saatgut ist *Sorghum* enthalten, d.h. hier gibt es Mindestanforderungen (z.B. Keimfähigkeit: 80 %).

Material und Methoden

Keimfähigkeit

In einem Gemeinschaftsprojekt mit dem TFZ Straubing wurden im 1. Versuchsjahr 30 und im 2. Versuchsjahr 40 Hirseproben im Labor untersucht und parallel dazu im Feld angebaut. Die Keimprüfungen wurden nach den Internationalen Vorschriften zur Prüfung von Saatgut (ISTA Rules) durchgeführt, d.h. auf Filterpapier bei 25 °C und Wechsellicht. Im Anschluss daran konnten 3 Keimfähigkeitsgruppen gebildet werden:

- Gruppe I - Keimfähigkeit < 80 %
- Gruppe II - Keimfähigkeit ≥ 80 % und ≤ 90 %
- Gruppe III - Keimfähigkeit > 90 %

Triebkraft

Das Keimergebnis im standardisierten Laborversuch lässt keine Aussage über den zu erwartenden Feldaufgang zu, weil die Prüfung unter optimalen Temperaturbedingungen durchgeführt wird. Gerade bei Fruchtarten mit sehr hohem Temperaturanspruch ist eine weitere Prüfung im Labor unter Stressbedingungen, die den Feldaufgang beeinflussen

notwendig. Am besten dafür eignen sich Triebkraftprüfungen. Triebkraftprüfungen sind Keimprüfungen unter erschwerten Bedingungen, d.h. als Keimmedium wird Ackererde verwendet und die Keimtemperatur wird deutlich abgesenkt. Seit 30 Jahren wird die Triebkraftprüfung bei Mais erfolgreich durchgeführt und nachgefragt. Es ist daher naheliegend das Prüfungsverfahren bei Mais ebenfalls für Hirse anzuwenden. Das bedeutet, dass die Hirseproben eine Woche im Klimaschrank bei 10 °C (Stressphase) und im Anschluss in der Klimakammer bei 25 °C angezogen werden. In Vorversuchen hat sich eine weitere Prüfungsvariante bei 15 °C konstanter Temperatur herauskristallisiert.

Feldaufgang

Der Feldaufgang ist von einer Vielzahl von Faktoren abhängig, z. B. Saatgutqualität, Saatbettvorbereitung, Saatechnik, Witterung usw.. Der Versuch wurde in Straubing, Niederbayern auf einem Lößlehm mit 72 Bodenpunkten durchgeführt. Die Jahresdurchschnittstemperatur beträgt 8,3 °C bei 673 mm Niederschlag. Der Versuch wurde als Blockanlage in dreifacher Wiederholung durchgeführt. Die Saatstärke betrug 25 Körner pro m². Pro Parzelle wurden 6 Reihen mit einer Länge von 7,2 m bei einem Reihenabstand von 50 cm ausgesät. Wegen Randeffekten wurde nur der Kernbereich der Parzellen ausgezählt, d.h. die inneren 4 Reihen.

Ergebnisse und Diskussion

Keimfähigkeit

Die Ergebnisse zeigen, dass die Qualität des verwendeten Saatgutes sehr unterschiedlich war (*Tabellen 1-3*). Insbesondere im 1. Versuchsjahr war der Anteil von Saatgutpartien mit mäßiger Keimqualität höher. Die Einteilung in 3 Gruppen wurde deshalb vorgenommen um zu sehen, ob sich die unterschiedlichen Saatgutqualitäten in der Triebkraftprüfung und beim Feldaufgang ähnlich verhalten.

Triebkraft

Die Triebkraftwerte liegen im Vergleich zu den Keimfähigkeitswerten bei beiden Prüfungsverfahren niedriger, wobei mit zunehmender Keimfähigkeit die Unterschiede zu den Triebkraftwerten geringer werden. Allerdings kommen in

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Vöttinger Straße 38, D-85354 FREISING

² Technische Universität München (TUM), FREISING-WEIHENSTEPHAN

³ Fachhochschule Weihenstephan (FH), FREISING und Agrocampus Ouest, Frankreich

⁴ Technologie- und Förderzentrum (TFZ), Schulgasse 18, D-94315 STRAUBING

* Ansprechpartner: Dipl.-Ing. Benno VOIT: benno.voit@lfl.bayern.de

Tabelle 1: Ergebnisse der Keimfähigkeit und Triebkraft des 1. und 2. Versuchsjahres. Gruppe I - Keimfähigkeit < 80 %

Proben-Nr.	1. Versuchsjahr			2. Versuchsjahr		
	Keimfähigkeit (%) 25 °C	Triebkraft (%) 10/25 °C	Triebkraft (%) ~15 °C	Keimfähigkeit (%) 25 °C	Triebkraft (%) 10/25 °C	Triebkraft (%) ~15 °C
1	10	8	4	65	42	32
2	36	35	29	67	61	46
3	44	42	36	68	52	51
4	44	14	11	75	69	72
5	66	65	61			
6	66	48	37			
7	73	72	62			
8	73	73	74			
9	76	71	54			
10	76	71	71			
11	78	66	69			
Mittelwert	58	51	46	69	56	50

Tabelle 2: Ergebnisse der Keimfähigkeit und Triebkraft des 1. und 2. Versuchsjahres. Gruppe II - Keimfähigkeit ≥ 80 ≤ 90 %

Proben-Nr.	1. Versuchsjahr			2. Versuchsjahr		
	Keimfähigkeit (%) 25 °C	Triebkraft (%) 10/25 °C	Triebkraft (%) ~15 °C	Keimfähigkeit (%) 25 °C	Triebkraft (%) 10/25 °C	Triebkraft (%) ~15 °C
1	81	80	78	81	58	56
2	83	59	75	84	62	65
3	86	84	87	86	87	75
4	89	89	90	88	89	78
5	89	92	88	88	70	75
6	90	75	78	88	79	69
7	90	91	93	89	87	80
8	90	81	77	90	88	90
9				90	87	83
10				90	90	90
11				90	90	89
12				90	91	88
13				90	86	78
Mittelwert	87	81	83	88	82	78

Tabelle 3: Ergebnisse der Keimfähigkeit und Triebkraft des 1. und 2. Versuchsjahres. Gruppe III - Keimfähigkeit > 90 %

Proben-Nr.	1. Versuchsjahr			2. Versuchsjahr		
	Keimfähigkeit (%) 25 °C	Triebkraft (%) 10/25 °C	Triebkraft (%) ~15 °C	Keimfähigkeit (%) 25 °C	Triebkraft (%) 10/25 °C	Triebkraft (%) ~15 °C
1	91	89	88	91	93	90
2	91	91	94	91	85	78
3	92	93	95	92	87	90
4	92	79	77	92	92	90
5	92	87	78	93	69	70
6	94	93	96	93	91	74
7	96	96	96	94	94	93
8	96	96	85	94	91	77
9	97	96	95	94	91	77
10	98	91	89	94	95	94
11				94	96	88
12				95	90	83
13				96	96	94
14				96	89	73
15				96	84	86
16				96	91	91
17				97	97	98
18				97	81	93
19				97	97	89
20				97	95	97
21				97	86	74
22				97	86	91
23				99	98	98
Mittelwert	94	91	89	95	90	86

Tabelle 4: Ergebnisse der Triebkraft und des Feldaufganges des 1. und 2. Versuchsjahres. Gruppe I - Keimfähigkeit < 80 %

Proben-Nr.	1. Versuchsjahr			2. Versuchsjahr		
	Triebkraft (%)		Feldaufgang (%)	Triebkraft (%)		Feldaufgang (%)
	10/25 °C	~15 °C		10/25 °C	~15 °C	
1	8	4	6	42	32	71
2	35	29	31	61	46	60
3	42	36	40	52	51	65
4	14	11	35	69	72	78
5	65	61	57			
6	48	37	49			
7	72	62	50			
8	73	74	37			
9	71	54	57			
10	71	71	54			
11	66	69	68			
Mittelwert	51	46	44	56	50	69

Tabelle 5: Ergebnisse der Triebkraft und des Feldaufganges des 1. und 2. Versuchsjahres. Gruppe II - Keimfähigkeit ≥ 80 ≤ 90 %

Proben-Nr.	1. Versuchsjahr			2. Versuchsjahr		
	Triebkraft (%)		Feldaufgang (%)	Triebkraft (%)		Feldaufgang (%)
	10/25 °C	~15 °C		10/25 °C	~15 °C	
1	80	78	63	58	56	68
2	59	75	40	62	65	79
3	84	87	65	87	75	87
4	92	88	64	89	78	83
5	75	78	70	70	75	70
6	91	93	52	79	69	77
7	81	77	65	87	80	89
8				88	90	81
9				87	83	77
10				90	90	87
11				90	89	79
12				91	88	92
13				86	78	81
Mittelwert	80	82	60	82	78	81

Tabelle 6: Ergebnisse der Triebkraft und des Feldaufganges des 1. und 2. Versuchsjahres. Gruppe III - Keimfähigkeit > 90 %

Proben-Nr.	1. Versuchsjahr			2. Versuchsjahr		
	Triebkraft (%)		Feldaufgang (%)	Triebkraft (%)		Feldaufgang (%)
	10/25 °C	~15 °C		10/25 °C	~15 °C	
1	89	88	42	93	90	83
2	91	94	41	85	78	83
3	93	95	48	87	90	80
4	79	77	65	92	90	81
5	87	78	75	69	70	76
6	93	96	76	91	74	80
7	96	96	60	94	93	93
8	96	85	77	91	77	90
9	96	95	62	91	77	83
10	91	89	82	95	94	82
11				96	88	81
12				90	83	75
13				96	94	88
14				89	73	85
15				84	86	86
16				91	91	88
17				97	98	95
18				81	93	88
19				97	89	94
20				95	97	92
21				86	74	83
22				86	91	84
23				98	98	84
Mittelwert	91	89	63	90	86	85

allen drei Gruppen Proben vor, die in der Triebkraft um mehr als 15 % unter der Keimfähigkeit liegen. Die Triebkraftvariante 15 °C konstant ist das strengere Prüfverfahren wie die Ergebnisse zeigen.

Feldaufgang

Beim Feldaufgang ist ein deutlicher Jahreseffekt festzustellen (Tabellen 4-6). Im 1. Versuchsjahr lag der Feldaufgang bei allen 3 Gruppen unter den Triebkraftwerten. Überraschend dabei war vor allem, dass bei der besseren Saatgutqualität (Gruppe II und III) der Feldaufgang zwischen 20 und 30 % unter den Werten der Triebkraft lag. Bei der schwächeren Saatgutqualität (Gruppe I) hat der Feldaufgang die Triebkraftwerte nur knapp unterschritten.

Im 2. Versuchsjahr zeigte sich eine gute Übereinstimmung zwischen Triebkraft und Feldaufgang bei der besseren Saatgutqualität (Gruppe II und III). Bei der schwächeren Saatgutqualität (Gruppe I) übertraf der Feldaufgang die Triebkraftwerte erheblich. Warum der Feldaufgang zwischen den beiden Versuchsjahren so stark schwankte lässt sich mit der Bodentemperatur zur Saatzeit erklären (Tabelle 7).

Obwohl im 1. Versuchsjahr die Aussaat erst am 7. Juni erfolgte lag die Bodentemperatur nur bei 14 °C und damit nur knapp über der Mindestkeimtemperatur von 12 °C. Erst am 5. Tag nach der Saat erreichte die Bodentemperatur 20 °C. Im 2. Versuchsjahr lag die Bodentemperatur bereits zur Aussaat bei 20 °C, was zu einem deutlich höheren Feldaufgang führte.

Die Korrelation zwischen Feldaufgang und Triebkraft liegt im mittleren Bereich ($R^2 = 0,55-0,72$), wobei zwischen den beiden Triebkraftvarianten keine signifikanten Unterschiede bestehen.

Zusammenfassung und Ausblick

Die Witterung zur und nach der Saat beeinflusst den Feldaufgang erheblich. Liegt die Bodentemperatur zur Aussaat und danach nur geringfügig über der Mindestkeimtemperatur ist der Feldaufgang z.T. deutlich unter den festgestellten Werten der Triebkraft. Im Gegensatz zu Mais kann sich

Tabelle 7: Bodentemperaturen zur Saat und zum Feldaufgang im 1. und 2. Versuchsjahr

1. Versuchsjahr		2. Versuchsjahr	
Datum	Temperatur (°C)	Datum	Temperatur (°C)
07.06.	14,0	27.05.	19,5
08.06.	15,1	28.05.	20,5
09.06.	16,2	29.05.	21,5
10.06.	16,7	30.05.	22,8
12.06.	17,5	31.05.	23,0
13.06.	20,0	01.06.	23,5
14.06.	21,4	02.06.	23,9
15.06.	22,3	03.06.	24,7
16.06.	23,3	04.06.	21,5
17.06.	24,2	05.06.	20,0
18.06.	22,3	06.06.	19,6
19.06.	22,3	07.06.	19,5
21.06.	24,3	08.06.	19,9
22.06.	24,5	09.06.	19,3
Summe	284,1	Summe	299,2

die Hirse bestocken und verfügt damit über ein Regulativ dünne Bestände wie z.B. im 1. Versuchsjahr bis zu einem bestimmten Grad auszugleichen. Zwischen den beiden getesteten Triebkraftvarianten (10/25 °C und 15 °C konstant) besteht ein geringer Unterschied. Vielleicht gelingt es mit Hilfe der Züchtung kältetolerantere Sorten zu schaffen und damit den Feldaufgang zu stabilisieren. Die Aufnahme der Hirse in das Artenverzeichnis des Saatgutverkehrsgesetzes ist anzustreben, damit zukünftig am Saatgutmarkt eine Mindestqualität für Hirsesaatgut angeboten werden muss.

Literatur

- FUCHS, H., 1997: Der Erd-Kalttest als Triebkraftprüfung; Möglichkeiten und Grenzen seines Einsatzes in der praktischen Saatgutprüfung. VDLUFA Schriftenreihe 46, 87-90.
- ISTA (International Seed Testing Association), 2008: International Rules for Seed Testing (Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut). Zürich, Schweiz.
- YU, J., M.R. TUINSTRAN, M.M. CLAASSEN, W.B. GORDON and M.D. WITT, 2002: Analysis of cold tolerance in sorghum under controlled environment conditions. Field Crops Research 86, 21-30.

Analyse und Integration wirksamer Mehлтаuresistenzen in Triticale

Kerstin Flath^{1*}, Bettina Klocke¹ und Matthias Herrmann²

Abstract

Increasing triticale acreages in Middle Europe stimulated the adaptation of powdery mildew populations to the race-specific resistances of most recommended varieties. As a consequence only a few varieties remained resistant after the first epidemics emerged in 2004 in Germany. Our findings indicate that powdery mildew of triticale most probably developed from wheat mildew. The triticale mildew population in Germany is highly diverse as shown by an analysis of 366 isolates from the main growing areas. In seedling tests with these 366 isolates only 'Grenado' was completely resistant among the currently registered triticale varieties. A screening of 826 preselected triticale breeding strains showed that 8% of this material has been completely resistant to four highly virulent isolates. In the field, 86% of these triticale strains were highly resistant after mildew inoculation indicating a combination of effective seedling and adult-plant resistance. Our aim is to characterise some of these resistances and to make them available for the breeders in future. The effects of known resistance genes from wheat could not be predicted when incorporated in primary triticale, i.e. resyntheses from wheat x rye. Obviously, the rye genome had a high impact on the resistance level of triticale. Indeed, a resistance gene from the triticale strain JKI.5015 could already been localized on rye chromosome 6RL by SSR markers. The high diversity of powdery mildew populations is a clue that newly detected race-specific resistances might be effective only for shorter periods. On the long run, breeders should combine them with effective adult-plant resistances to select for triticale varieties with durable resistance.

Keywords: powdery mildew - triticale - virulence analysis - resistance - breeding

Triticale galt lange Zeit als „Gesundfrucht“, deren Anbauwürdigkeit sich auch in der geringen Krankheitsanfälligkeit begründete. Im Jahr 2004 zeigte sich erstmals eine zunehmende Anfälligkeit einiger Triticalesorten gegenüber Echten Mehltau, *Blumeria graminis* DC. In den Folgejahren trat die Krankheit in vielen Regionen Deutschlands epidemisch auf. Vermutlich führte der zunehmende Anbauumfang von Triticale zur Anpassung der Mehltaupopulation an die rasenspezifischen Resistenzen aktueller Sorten.

Im Rahmen eines Forschungsprojektes soll neues, mehltairesistentes Ausgangsmaterial für die praktische Züchtung bereitgestellt werden, um die Widerstandsfähigkeit deutscher Triticalesorten zu erhöhen, Erträge langfristig zu sichern und die Wirtschaftlichkeit des Triticaleanbaus zu verbessern. Zur Abschätzung der Wirksamkeit und Dauerhaftigkeit dieser neuen Resistenzquellen wird eine Pathosystemanalyse durchgeführt, bei der sowohl die Pathogenpopulationen (Wirtsspezifität, Virulenzsituation, Komplexität, Diversität) als auch die Sortenresistenzen (Keimlings- und Adultpflanzenstadium, Übertragbarkeit von Mehltairesistenzen, Lokalisation von Resistenzgenen) untersucht werden.

Mit Infektionsversuchen wurde zunächst die **Wirtsspezifität** des Pathogens untersucht. Dazu sollte geklärt werden, ob der auf Triticale beobachtete Befall durch Weizen- oder Roggenmehltau verursacht wird, oder ob es sich hierbei um eine eigenständige Mehltauart handelt. Blattsegmenttests mit von Weizen, Roggen und Triticale isoliertem Mehltau aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands ergaben, dass von den getesteten 61 Triticalesorten nur einige wenige überhaupt von Weizen- und Roggenmehltau befallen wurden. Der Triticalemehltau konnte hingegen die Mehrzahl der Weizensorten, aber nur einige wenige Roggensorten befallen (*Tabelle 1*). Daraus lässt sich schließen, dass Triticalemehltau vermutlich aus Weizenmehltau entstanden ist, der sich speziell an diesen neuen Wirt angepasst hat.

Zur Analyse der **Virulenzsituation** des Triticalemehltaus in den wichtigsten deutschen Anbauregionen wurden 366 Einpustelisolat (EPI) aus mehltaubefallenen Blattproben hergestellt. Blattsegmenttests mit einem Differenzialsortiment aus 20 ausgewählten Triticalesorten konnten die untersuchten EPI insgesamt 136 unterschiedlichen Pathotypen zuordnen. Die **Komplexität** (=Anzahl der Virulenzfaktoren) der Isolate schwankte zwischen 6 und 18 von 20 möglichen

Tabelle 1: Reaktion unterschiedlicher Getreidearten auf von Weizen, Roggen und Triticale isoliertem Mehltau (+++ Mehrzahl, + wenige, – keine der getesteten Sorten befallen)

Getreideart	Mehltauisolate		
	Weizen (N = 20)	Roggen (N = 5)	Triticale (N = 31)
Weizen (N = 39)	+++	-	+++
Roggen (N = 6)	-	+++	+
Triticale (N = 61)	+	+	+++

Die Förderung des Forschungsvorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung mit Unterstützung der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V.

¹ Julius Kühn-Institut (JKI), Bundesforschungsinst.für Kulturpflanzen, Inst. für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, D-14532 KLEINMACHNOW

² JKI, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, D-18190 GROSS-LÜSEWITZ

* Ansprechpartner: Dr. Kerstin FLATH, kerstin.flath@jki.bund.de

Tabelle 2: Blattsegmenttests primärer Triticale (mehltauresistenter Weizen x mehltauanfälliger Roggen) mit fünf Weizen- und fünf Triticalemehltauisolaten (+ = virulente, - = avirulente Reaktion der Isolate)

Weizen-Eltern (Resistenz)	Weizenmehltau-Isolate					Triticalemehltau-Isolate				
	1	24	42	55	116	6/4	8/2	41/2	11/1	26
<i>Triticum aestivum</i>:										
Rektor, Tukan (Pm5)	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Götz (Pm8)	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-
Kristall (Pm5+8)	-	+	-	-	+	+	+	+	+	-
Maris Huntsman (Pm2+6)	-	+	-	+	-	-	-	+	-	-
<i>Triticum durum</i>:										
D 8 (U*)	-	+	+	+	-	-	-	-	-	-
D 9 (U*)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D 16 (U*)	-	+	-	+	-	-	-	-	-	-
Primäre Triticale										
Rektor x L301	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Tukan x L304	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-
Götz x L301	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+
Kristall x L304	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-
Maris Huntsman x L301	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D 8 x L301	-	-	-	-	-	+	-	-	-	-
D 9 x L301	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D 16 x L301	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-

* Resistenz unbekannter Herkunft

Virulenzen. Die Mehrzahl der Isolate wies eine Komplexität von 15 auf. Als Maßzahl für die Verschiedenheit der getesteten EPI wurde ein Simpson-Index von $S=0,96$ ($S=0$ geringe Diversität, $S=1$ hohe Diversität) berechnet, der eine hohe **Diversität** der deutschen Triticalemehltaupopulation dokumentiert.

Um die **Sortenresistenzen** einschätzen zu können, wurde zu Beginn des Forschungsprojektes zunächst das Sortiment der im Jahr 2007 zugelassenen 23 Winter- und 6 Sommertriticalesorten mit insgesamt 366 Triticalemehltauisolaten aus unterschiedlichen Regionen Deutschlands im **Keimlingsstadium** geprüft. Nur die Triticalesorte 'Grenado' erwies sich als resistent gegen alle getesteten Mehltauisolat. Im nächsten Schritt wurden insgesamt 826 vorselektierte Triticalelinien der am Projekt beteiligten Zuchtfirmen sowie des JKI mittels Blattsegmenttest mit vier hochvirulenten Mehltauisolaten im Primärblattstadium geprüft. Dabei erwiesen sich 8% der Linien als vollständig resistent. Diese potenziellen Resistenzquellen können zukünftig zur Erzeugung neuer, widerstandsfähiger Triticalesorten genutzt werden.

Zur Beurteilung der **Adultpflanzenresistenz** wurden im Jahr 2008 Feldprüfungen mit künstlicher Inokulation hochvirulenter Isolategemische am JKI-Standort in Berlin-Dahlem in vierfacher Wiederholung in randomisierten Blockanlagen durchgeführt. Geprüft wurde das Zuchtmaterial, das im Blattsegmenttest vollständig resistent gegen zwei hochvirulente Isolate reagierte (173 Wintertriticale), die zur Zulassung beim Bundessortenamt angemeldeten Sorten (27 Wintertriticale) sowie die aktuell zugelassenen Triticalesorten (26 Winter- und Sommertriticale). Nach dreimaliger Bonitur konnten 86% der getesteten Triticalezuchtstämme, 63% der Wertprüfungssorten und 38% der zugelassenen Sorten als mehlttauresistent eingestuft werden.

Für Untersuchungen zur **Übertragbarkeit von Mehlttauresistenzen** aus Weizen in primäre Triticale konnte Material der Landessaatzuchtanstalt der Universität

Hohenheim genutzt werden. Hierbei handelt es sich um Kombinationen mehlttauresistenter Weizen der Arten *Triticum aestivum* und *Triticum durum* mit den für Roggenmehltau anfälligen Roggenlinien L301 und L304 (Tabelle 2). Für Blattsegmenttests wurden fünf Weizen- und fünf Triticalemehltauisolate mit unterschiedlichen Virulenz-/Avirulenzgenkombinationen ausgewählt. Während die Weizenisolate auf den Weizen-Eltern sowohl virulente als auch avirulente Reaktionen hervorriefen, wurden die aus diesen Weizensorten entwickelten primären Triticale von keinem der Weizenisolate befallen. Im Gegensatz dazu konnten die Triticalemehltauisolate sowohl auf den Weizeneltern als auch auf den primären Triticale virulente Reaktionen hervorrufen, die Virulenz-/Avirulenzmuster beider waren jedoch nicht identisch. Diesen ersten Blattsegmenttests zufolge ist die Wirkung von Resistenzgenen aus Weizen in Triticale nicht vorhersagbar. Das Roggen-genom scheint einen wesentlichen Einfluss auf die Resistenzprägung zu haben. Diese Schlussfolgerungen werden derzeit durch zusätzliche Infektionstests verifiziert.

Für genetische Analysen und die chromosomale Lokalisation von Resistenzgenen wurden vom JKI in Groß Lüsewitz Kreuzungen zwischen den mehlttauresistenten Triticalesorten 'Grenado', 'Agrano', 'Fargo' und 'Fidelio' sowie 10 Zuchtstämmen mit den mehlttauanfälligen Triticalesorten 'Focus' und 'Trimester' durchgeführt. Die Prüfung der F1 weist auf dominante Resistenzgene in 'Agrano', Stamm JKI.59 und Stamm JKI.5015 hin. In den übrigen Sorten bzw. Zuchtstämmen wurden rezessive Vererbungsmodi gefunden. Für die monogen-dominant vererbte Resistenz aus Stamm JKI.5015 konnten gekoppelte roggen-spezifische molekulare Marker identifiziert werden, die eine Lokalisation des Resistenzgens auf Chromosom 6RL belegen.

Zusammenfassung und Schlussfolgerungen

Der zunehmende Anbauumfang von Triticale führte in den letzten Jahren zur Anpassung der Mehlttaupopulation

an die rassenspezifischen Resistenzen aktueller Sorten. Triticalemehltau, der sich wahrscheinlich aus Weizenmehltau entwickelt hat, weist eine hohe Diversität und Komplexität auf. Im aktuellen Triticale-Zuchtmaterial sind zahlreiche Resistenzquellen mit wirksamer Keim- und Adultpflanzenresistenz verfügbar, die im Rahmen eines Forschungsprojektes näher charakterisiert und für die praktische Züchtung bereitgestellt werden sollen. In primären Triticalen, d.h. Resynthesen aus Weizen und

Roggen, ist die Wirkung von Resistenzgenen aus Weizen nicht vorhersagbar. Das Roggengenom hat offensichtlich einen wesentlichen Einfluss auf die Resistenzausprägung. Die Resistenz des Triticale-Stamms JKI.5015 konnte bereits auf dem Roggenchromosom 6RL lokalisiert werden. Aufgrund der hohen Diversität der Triticalemehltaupopulationen sollten in der Züchtung nur Stämme mit wirksamen Adultpflanzenresistenzen eingesetzt werden, um möglichst dauerhafte Resistenzen zu erzeugen.

Verbesserung der Toleranz der Gerste gegenüber *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) durch Pyramidisierung von QTL

Christine Riedel^{1*}, A. Habekuss¹ und F. Ordon¹

Abstract

Barley yellow dwarf virus (BYDV) is an economically important pathogen of barley which may become even more important due to global warming. The opportunities to control this disease are up to now mainly limited to chemical measures against the aphid vectors because only the *Ryd2* gene has been incorporated into very few cultivars which gained no economic importance. Meanwhile additional loci conferring tolerance against BYDV were identified, like *Ryd3* and a QTL on chromosome 2H. The aim of the present study is to get information whether the level of tolerance against BYDV in barley can be improved by combining these loci. Therefore, DH-lines were genotyped by molecular markers for the presence of the susceptibility or the resistance encoding allele at respective loci (*Ryd2*, *Ryd3*, QTL on 2H) and were tested for their level of BYDV-tolerance after artificial inoculation with virus bearing aphids in field trials. The results of the first growing period indicate an additive effect of the tolerance alleles concerning some of the parameters analysed. The combination of *Ryd2* and *Ryd3* causes a significant reduction of the virus titre in the winter and spring barley DH-population. The DH-lines of the spring barley population carrying *Ryd2/Ryd3* also showed a significantly higher relative grain yield. In general the QTL of chromosome 2H had only a small effect on the level of tolerance.

Keywords: *Hordeum vulgare*, *Barley yellow dwarf virus*, tolerance, pyramiding, molecular marker

Zusammenfassung

Das Gerstengelverzweigungsvirus (*Barley yellow dwarf virus*, BYDV) ist ein wirtschaftlich wichtiges Pathogen

im Getreideanbau, dessen Bedeutung infolge der prognostizierten Klimaerwärmung in den nächsten Jahrzehnten weiter zunehmen wird. Die Bekämpfungsmöglichkeiten sind auf die chemische Vektorbekämpfung sowie auf ackerbauliche Maßnahmen beschränkt.

In der Gerstenzüchtung wurde bisher das Resistenzgen *Ryd2* genutzt, jedoch wurden inzwischen weitere Toleranz bedingende Loci wie *Ryd3* und ein QTL auf Chromosome 2H identifiziert. Ziel der vorliegenden Arbeiten ist es Erkenntnisse darüber zu gewinnen, ob durch eine markergestützte Kombination dieser Loci das Toleranzniveau der Gerste gegenüber BYDV verbessert werden kann. Hierzu wurden DH-Linien-Populationen zunächst mit bekannten Markern für die entsprechenden Resistenzloci genotypisiert und anschließend nach künstlicher Inokulation mit BYDV-PAV deren Virusbefall sowie Ertragsparameter relativ zur nicht infizierten Kontrolle der gleichen DH-Linie bestimmt.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse zur Phänotypisierung dieser DH-Linien aus dem ersten Versuchsjahr lassen bezüglich einiger Parameter einen additiven Effekt der Toleranzallele erkennen. Die Kombination von *Ryd2* und *Ryd3* führte sowohl in den Wintergersten- als auch in den Sommergersten-DH-Linien zu einer signifikanten Verringerung des Virusgehaltes gegenüber den genotypisch anfälligen Linien (*ryd2/ryd3*) und solchen mit den entsprechenden einzelnen positiven Allelen. Ebenso konnte in DH-Linien der Sommergerstenkreuzung für diese Kombination (*Ryd2/Ryd3*) eine höhere Leistung im relativen Kornertrag pro Pflanze gegenüber den anderen Genotypen nachgewiesen werden. Der QTL auf Chromosom 2H zeigte allgemein nur eine geringe Toleranzwirkung.

Einleitung

Vor dem Hintergrund des Klimawandels ist aufgrund von milderem Herbst- sowie Wintertemperaturen mit einer sich zeitlich ausdehnenden Flugaktivität von Insekten zu rechnen. Dies wird auch Folgen für die Übertragung von insektenübertragbaren Viren wie z.B. für das durch Blattläuse übertragene *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) haben. Die in Mitteleuropa vorherrschenden relevanten Blattlausarten *Rhopalosiphum padi* und *Sitobion avenae* sind die Hauptvektoren für das hier dominierende BYDV-PAV (HABEKUSS et al. 2002). BYDV gehört zur Familie

der *Luteoviren* und befällt nahezu alle *Poaceae*, darunter auch viele wichtige Getreidearten wie Weizen, Gerste, Hafer, Roggen, Triticale und Mais (D'ARCY und DOMIER 2005). Es nimmt durch sein periodisch-epidemisches Auftreten vor allem in Wintergerste und Winterweizen und den daraus resultierenden erheblichen Ertragsverlusten mit bis zu 40% eine bedeutende Stellung im Getreideanbau ein (LISTER und RANIERI 1995, RIEDELL et al. 1999, OBERFORSTER 2002).

Je früher die Infektion in der Pflanzenentwicklung stattfindet, desto größer werden die zu erwartenden Schäden, so

¹ Julius Kühn-Institut - Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Straße 27, D-06484 QUEDLINBURG

* Ansprechpartner: Christine RIEDEL, christine.riedel@jki.bund.de

dass ein Schutz vor einer BYDV-Infektion insbesondere im Jungpflanzenstadium von Bedeutung ist. Eine effektive Bekämpfung des Virus ist zurzeit nur indirekt durch die Bekämpfung der Vektoren durch Insektizide möglich. Ebenso kann zur Reduzierung des Infektionsrisikos die Aussaat der Winterkultur in eine Zeit verschoben werden, in der der Blattlausflug bereits reduziert ist, d.h. in den Spätherbst (HUTH 2002). Diese Maßnahmen sind jedoch stark witterungsabhängig und häufig betriebswirtschaftlich nicht zu realisieren. Eine sichere und kostengünstigere Alternative zur Verringerung des Anbaurisikos sind resistente bzw. tolerante Sorten. Die Grundlage zur Züchtung solcher Sorten ist durch die Identifizierung von effektiven Toleranzgenen oder QTL gegeben. Bisher wurde das Resistenzgen *ryd1* (SUNESON 1955) identifiziert, welches aber wegen seiner nur sehr geringen Wirksamkeit in der Gerstenzüchtung nicht verwendet wurde. Des Weiteren wurde das unvollständig dominante Gen *Ryd2* (SCHALLER et al. 1964) auf Chromosom 3HL (COLLINS et al. 1996) lokalisiert. Dieses Gen bedingt eine Toleranz gegenüber BYDV-PAV und BYDV-MAV. Sein Toleranzeffekt ist jedoch stark abhängig vom genetischen Hintergrund und den Umweltbedingungen (SCHALLER 1984). In der äthiopischen Gerstenlinie 'L94' konnte ein zweites wirksames Gen, *Ryd3*, auf Chromosom 6H identifiziert werden, welches 75% der Varianz in der Symptomausprägung erklärt (NIKS et al. 2004). Ein QTL aus der Herkunft 'Post', auf den 19% der Variation im relativen Kornertrag/Pflanze zurückzuführen ist, wurde auf Chromosom 2HL lokalisiert (SCHEURER et al. 2001).

Bisher wurde zur Züchtung von toleranten Sorten lediglich *Ryd2* genutzt, wie z.B. in den Sorten 'Vixen' und 'Naturel'. Ziel der Arbeit ist es, im Hinblick auf eine weitere Verbesserung des Toleranzniveaus und als Ausgangspunkt für die Züchtung von BYDV-toleranten Sorten, die bekannten Toleranzallele (*Ryd2*, *Ryd3*, QTL 2H) sowohl in Winter- als auch in Sommergersten markergestützt zu kombinieren und deren Effekte auf den Virusbefall und die Ertragsleistung zu analysieren.

Material und Methoden

Zur Kombination der drei bekannten Toleranzallele in Gerste wurden doppelhaploide Linien der Kreuzungen 'RIL K4-56' (*Ryd3*; Sommergerste) x 'DH21-136' (*Ryd2* + QTL 2H; Wintergerste) und 'RIL K4-56' x 'Coracle' (*Ryd2*; Sommergerste) durch Mikrosporen- und Antherenkultur von der KWS-Lochow GmbH und der Saaten-Union Resistenzlabor GmbH hergestellt.

Die Extraktion der DNA zur Genotypisierung der vorhandenen 470 Wintergersten und 295 Sommergersten DH-Linien erfolgte durch eine Miniprep-Methode nach STEIN et al. (2002). Für den Nachweis von *Ryd2* wurde der Capsmarker YLP verwendet (FORD et al. 1998), dessen Produkt anschließend mit dem Restriktionsenzym *Hsp92II* geschnitten wurde. *Ryd3* wurde durch den Mikrosatellitenmarker HVM74 (NIKS et al. 2004) und der QTL auf Chromosom 2H mit HVCSG (SCHEURER et al. 2001) in einer vollautomatischen Kapillarelektrophorese (Beckman Coulter CEQ 8000) identifiziert.

Je zweihundert DH-Linien (inkl. Elternlinien) beider DH-Populationen wurden in der Vegetationsperiode 2007/2008 an vier Standorten in Deutschland (JKI, Quedlinburg; KWS-Lochow GmbH, Bernburg; Nordsaat, Gudow; Saatzucht Ackermann & Co, Irlbach) nach BYDV-Inokulation phänotypisiert. Nach der Aussaat im Gewächshaus von insgesamt 40 Körnern pro DH-Linie und pro Standort für die Varianten (Kontrolle/Infiziert) und zwei Wiederholungen wurden die Pflanzen der infizierten Variante im Einblattstadium zur Inokulation mit BYDV-PAV mit virustragenden Blattläusen der Art *Rhopalosiphum padi* (10 Aphiden/Pflanze) besetzt, welche nach einer Inokulationsdauer von fünf Tagen mit dem Insektizid Confidor abgetötet wurden. Zeitnah wurden die Pflanzen an den vier Versuchsorten ausgepflanzt, die Wintergerstenpopulation Mitte Oktober 2007, die Sommergersten Anfang April 2008.

Als erster Schritt der Phänotypisierung wurden bei den Wintergersten Mitte April und bei den Sommergersten sechs Wochen später, im Stadium zwischen Bestocken und Schossen, eine Symptombewertung (Boniturnote (BN) 1=ohne Symptome, BN 9=abgestorben) der infizierten Variante an den vier Versuchsorten durchgeführt. Zeitgleich wurden aus der infizierten Variante Blattproben für den DAS-ELISA zur Bestimmung des Virustiters in ausgewählten Linien aller auftretenden Allelkombinationen von bis zu zehn Einzelpflanzen je Linie von zwei Wiederholungen an zwei Standorten genommen (Wintergersten: 3 Linien je 8 Allelkombinationen in Quedlinburg und Gudow; Sommergersten: 6 Linien je 4 Allelkombinationen in Quedlinburg und Irlbach). Im weiteren Versuchsverlauf wurden das Ährenschieben sowie die Wuchshöhe erfasst. Zur Ernte wurden der Kornertrag sowie die Ertragstrukturparameter Ährenzahl und Tausendkorngewicht (TKG) bestimmt und für die Einzelpflanze berechnet. In der Verrechnung wurde jeweils die Leistung der BYDV-inokulierten Variante in Relation zur gesunden Kontrollvariante gesetzt. Die hier dargestellten Ergebnisse beziehen sich auf den Standort Quedlinburg bei der Sommergerste, und die Standorte Quedlinburg, Bernburg und Gudow bei der Wintergerste.

Alle statistischen Analysen wurden mit der Software SAS 9.1 durchgeführt. Die Daten - außer die Boniturnoten - wurden mittels ANOVA und anschließenden Tukey-Test ($\alpha=0,05$) analysiert. Die ordinalskalierten Boniturnoten wurden mit einer Bootstrap-Methode nach Neuhäuser und Jöckel (2006) und anschließendem T-Test ausgewertet.

Ergebnisse und Diskussion

Genotypisierung

Die sich aus den drei beziehungsweise zwei Toleranzloci ergebenden Allelkombinationen für beide DH-Populationen und die Aufspaltung der DH-Linien zeigt die Tabelle 1. Die Ergebnisse des Chi²-Tests zeigen für die Sommergersten-DH-Population (Chi²=3,04) im Gegensatz zu der Wintergersten-DH-Population (Chi²=74,61) eine Anpassung an die erwartete Aufspaltung.

Tabelle 1: Ergebnisse der Genotypisierung

<i>Ryd2/Ryd3</i> /QTL	rrr	rrs	rsr	srr	ssr	srs	rss	sss
Anzahl DH-Linien	93	49	43	92	52	76	37	28
<i>Ryd2/Ryd3</i>		rr		rs		sr		ss
Anzahl DH-Linien		68		66		76		85

r: Toleranzallel, s: Anfälligkeitsallel

Symptomausprägung und Virusgehalt

In der Wintergersten-DH-Population zeigte sich bei den genotypisch anfälligen Linien (sss) im Mittel die stärkste Symptomausprägung (BN 6) mit einer deutlichen Verzweigung der Pflanzen sowie stark reduzierter Triebzahl und Blattvergilbungen. Bei den DH-Linien der Genotypen mit dem QTL 2H (ssr) und *Ryd2* (rss) war mit mittleren BN von vier und drei ebenfalls noch eine Wuchsdepression und Vergilbungen zu sehen. Die DH-Linien der restlichen Genotypen, also alle mit *Ryd3* und die mit *Ryd2*+QTL 2H wiesen im Mittel nur Blattvergilbungen (BN 2) auf und zeigten statistisch keine signifikanten Unterschiede. In der Sommergersten-DH-Population ergab sich hinsichtlich wachsender Symptomausprägung für die vier Genotypen die Reihenfolge von *Ryd2*+*Ryd3*, *ryd2*+*Ryd3*, *Ryd2*+*ryd3* und *ryd2*+*ryd3*, wobei zwischen allen Genotypen statistisch gesicherte Unterschiede nachzuweisen waren.

Übereinstimmend in beiden Populationen war der Virusgehalt in den Pflanzen der Genotypen mit *Ryd2*+*Ryd3* gegenüber denen mit nur einem Toleranzallel deutlich reduziert (Abbildung 1), sodass diese Kombination als epidemiologisch vorteilhaft einzustufen ist. In den Sommergersten zeigte *Ryd3* als Einzelgen einen gesichert höheren Einfluss auf den Virustiter als *Ryd2*. In der Wintergersten DH-Population lässt sich tendenziell ähnliches erkennen, die Unterschiede zwischen den Genotypen sind hier jedoch nur teilweise signifikant. Der reduzierte Virusgehalt in den Genotypen mit allen Anfälligkeitsallelen ist vermutlich auf die starke Symptomexpression und die damit stark verringerte Vitalität der Pflanzen zurückzuführen. Aufgrund der Ergebnisse der Bonitur und des ELISA kann auf eine sehr gute Infektionsrate mit BYDV-PAV geschlossen werden, was eine entscheidende Voraussetzung für diese Arbeiten ist.

Ährenschieben und Wuchshöhe

Eine Verzögerung im Ährenschieben von durchschnittlich fünf Tagen ergab sich bei DH-Linien mit allen Anfälligkeitsallelen in der Wintergersten-Population am Standort Quedlinburg. Die Linien mit ausschließlich dem positiven Allel des QTL auf 2H oder am *Ryd2* Locus wiesen in dieser Population eine Verzögerung im Ährenschieben von durchschnittlich zwei bis drei Tagen auf. In der Sommergersten-DH-Population traten in der Allelkombination *ryd2/ryd3* sehr viele Pflanzen auf, bei denen die Ähren in den Blattscheiden stecken blieben und somit das Ährenschieben im Wesentlichen unterblieb.

In der relativen Wuchshöhe der Sommergersten zeigten die Genotypen mit *ryd2/ryd3* im Mittel eine deutlich stärkere Wuchsminderung (60%) als die Linien mit Toleranzallelen (95%). Gleiches ergab sich bei den Wintergersten am Standort Quedlinburg und Bernburg. Hier reagierten zusätzlich die Linien mit nur dem QTL auf 2H mit einer leichten Verzweigung der Pflanzen (86%).

Ertragsparameter

Im relativen Kornertrag/Pflanze zeigten die Linien der verschiedenen Genotypen der Sommergersten-DH-Population signifikante Unterschiede, wohingegen sich bei der Wintergersten-Population nur zwischen den Genotypen mit allen Anfälligkeitsallelen sowie denjenigen mit dem positiven Allel am QTL auf Chromosom 2H statistisch gesicherte Differenzen zu den restlichen Linien ergaben (Abbildung 2).

In der Sommergersten-Population zeigten Linien mit *Ryd2*+*Ryd3* eine erhöhte Leistung im relativen Kornertrag/Pflanze und tendenziell auch bei den Ertragsstrukturparametern relative Ährenzahl/Pflanze und relatives TKG.

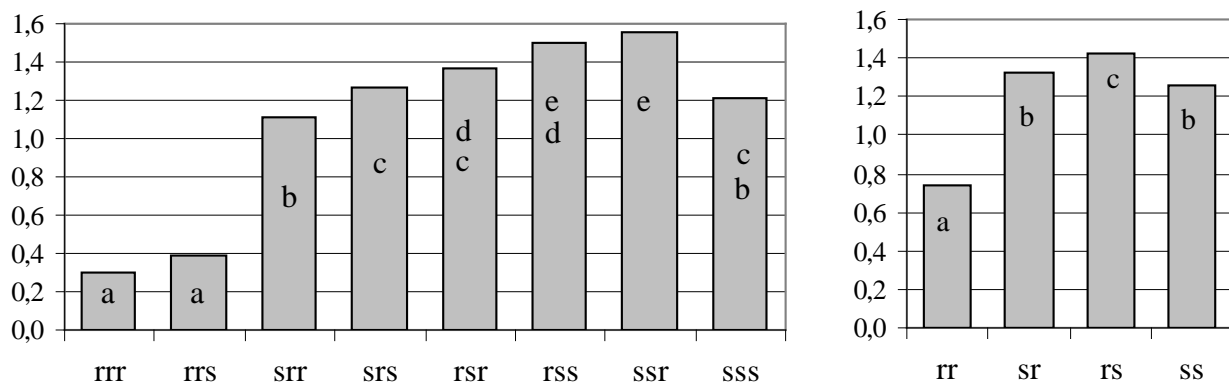


Abbildung 1: Mittlere ELISA-Extinktionen (405 nm) von Winter- (links) und Sommergersten-DH-Linien (rechts) mit verschiedenen Allelkombinationen. Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede. Reihenfolge der Allele für Wintergerste: *Ryd2/Ryd3*/QTL, Sommergerste: *Ryd2/Ryd3*

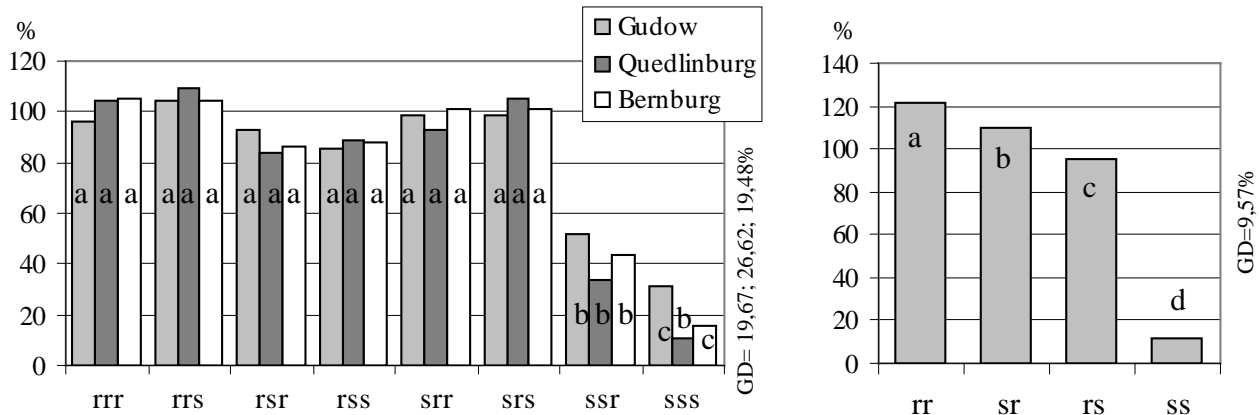


Abbildung 2: Relativer Kornertrag/Pflanze von Winter- (links) und Sommergersten-DH-Linien (rechts) mit verschiedenen Allelkombinationen. Unterschiedliche Buchstaben stehen für signifikante Unterschiede. Reihenfolge der Allele für Wintergerste: *Ryd2/Ryd3*/QTL, Sommergerste: *Ryd2/Ryd3*

Übereinstimmend in diesen Merkmalen hat *Ryd3* eine höhere Toleranzwirkung als *Ryd2*, die genotypisch anfälligen Linien reagierten mit einem starken Leistungsabfall im relativen Kornertrag/Pflanze und der relativen Ährenzahl/Pflanze. Tendenziell zeigte sich für die Wintergersten-DH-Linien ein ähnliches Ergebnis, wobei allerdings die relativ geringe Toleranzwirkung des QTL auf 2H noch berücksichtigt werden muss.

Die bisher vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass durch die Kombination der Resistenzallele *Ryd2* und *Ryd3* die Widerstandsfähigkeit der Gerste gegenüber der Infektion mit BYDV-PAV deutlich verbessert wird. Auf Grund der signifikanten Reduktion im Virusgehalt sind Linien mit dieser Genkombination als quantitativ resistent zu beschreiben. Im Gegensatz zu den hier gezeigten Ergebnisse konnte dies in früheren Arbeiten für *Ryd2* und den QTL auf Chromosom 2H nicht nachgewiesen werden (SCHEURER et al. 2000). Die für die Genotypisierung der DH-Linien eingesetzten molekularen Marker haben ihre Eignung zum sicheren Nachweis der drei Resistenzallele in den verschiedenen Genotypen bestätigt und erlauben somit eine Pyramidisierung dieser Resistenzloci im praktischen Zuchtbetrieb (vgl. WERNER et al. 2006). Zur Verifizierung der Ergebnisse werden die Feldversuche in dieser Vegetationsperiode an den genannten Standorten wiederholt. Am Ende der Arbeiten werden somit phänotypisch und genotypisch charakterisierte DH-Linien beider Kreuzungskombinationen mit hoher BYDV-Toleranz bzw. -Resistenz stehen, die gemeinsam mit den entsprechenden Markern als Ausgangspunkt für eine züchterische Verbesserung der BYDV Toleranz dienen können.

Danksagung

Die dargestellten Arbeiten sind Teil eines Projektes, das im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung durch das Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), sowie durch die Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) finanziert wird. Wir danken für die finanzielle Unterstützung. Unser weiterer Dank gilt der KWS-Lochow GmbH und der Saaten-Union Resistenzlabor GmbH für die

Erstellung der DH-Linien. Für die Durchführung der sehr arbeitsaufwendigen Feldversuche danken wir Herrn Dr. Claus EINFELDT (Dr. J. ACKERMANN und Co - Saat-zucht Irlbach), Herrn Dr. Eberhard LAUBACH (Nordsaat Saat-zuchtgesellschaft mbH) sowie Herrn Martin KOCH (KWS Lochow GmbH).

Literatur

- COLLINS, N.C., N.G. PALTRIDGE, C.M. FORD and R.H. SYMONS, 1996: The Yd2 gene for barley yellow dwarf virus resistance maps close to the centromere on the long arm of barley chromosome 3. *Theor. Appl. Genet.* 92, 858-864.
- D'ARCY, C.J. and L.L. DOMIER, 2005: Family *Luteoviridae*. In: FAUQUET, C.M., MAYO, M.A., MANILOFF, J., EIGHTH DESSELBERGER, U., BALL, L.A. (eds): *Virus Taxonomy. Classification and Nomenclature of Viruses. Report Internat. Committee Taxonomy of Viruses.* Elsevier, Acad. Press, 891-900.
- FORD, C.M., N.G. PALTRIDGE, J.P. RATHJEN, R.L. MORITZ, R.J. SIMPSON and R.H. SYMONS, 1998: Rapid and informative assays for Yd2, the barley yellow dwarf virus resistance gene, based on the nucleotide sequence of a closely linked gene. *Molecular Breeding* 4, 23-31.
- HABEKUSS, A., E. SCHLIEPHAKE, P. MATTHES, H. HARTLEB, S. MEHNER, M. GRÜNTZIG und E. FUCHS, 2002: Zum Auftreten des Gerstengelverzweigungsvirus und seiner Vektoren in Sachsen-Anhalt. Bericht über die 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatzuchtkaufleute Österreichs BAL Gumpenstein, 111-114.
- HUTH, W., 2002: Faktoren, welche die Ausbreitung der Verzweigungsviren im Getreide fördern und Maßnahmen, welche eine Schadensbegrenzung ermöglichen. Bericht über die 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatzuchtkaufleute Österreichs BAL Gumpenstein, 95-97.
- LISTER, M.R. and R. RANIERI, 1995: Distribution and Economic Importance of Barley Yellow Dwarf. In: D'ARCY, C.J., BURNETT, P.A. (eds.): *Barley Yellow Dwarf-40 Years of Progress.* APS Press, St. Paul, 29-53.
- NEUHÄUSER, M. and K.-H. JÖCKEL, 2006: A Bootstrap Test for the Analysis of Microarray Experiments with a Very Small Number of Replications. *Applied Bioinformatics* 5, 173-179.
- NIKS, R.E., A. HABEKUSS, B. BEKELE and F. ORDON, 2004: A novel major gene on chromosome 6H for resistance of barley against the barley yellow dwarf virus. *Theor. Appl. Genet.* 109, 1536-1543.

- OBERFORSTER, M., 2002: Viröse Gelbverzweigung bei Wintergetreide in Österreich - Sortenreaktion und Gegenstrategien. Bericht über die 53. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatzuchtkaufleute Österreichs BAL Gumpenstein. 99-106.
- RIEDEL, W.E., R.W. KIECKHEFER, S.D. HALEY, M.A.C. LANGHAM and P.D. EVENSON, 1999: Winter wheat responses to bird cherry-oat aphids and barley yellow dwarf virus infection. *Crop Sci.* 39, 158-163.
- SCHALLER, C.W., 1984: The genetics of resistance to barley yellow dwarf virus in barley. In: *Barley Yellow Dwarf, a Proceeding of the Workshop*. Burnett, P.A. (ed.), CIMMYT, Mexico, 93-99.
- SCHALLER, C.W., C.O. QUALSET and J.N. RUTGER, 1964: Inheritance and linkage of the Yd2 gene conditioning resistance to barley yellow dwarf virus disease in barley. *Crop Sci.* 4, 544-548.
- SCHEURER, K.S., W. FRIEDT, W. HUTH, R. WAUGH and F. ORDON, 2001: QTL analysis of tolerance to a German strain of BYDV-PAV in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor. Appl. Genet.* 103, 1074-1083.
- SCHEURER, K.S., W. HUTH, W. FRIEDT and F. ORDON, 2000: First results on BYDV-tolerance in barley estimated in pot experiments. *J. Plant Diseases and Protection* 107, 427-432.
- SUNESON, C.A., 1955: Breeding for resistance to yellow dwarf virus in barley. *Agron. J.* 47, 283.
- STEIN, N., G. HERREN and B. KELLER, 2001: A new DNA extraction method for high-throughput marker analysis in a large genome species such as *Triticum aestivum*. *Plant Breeding* 120, 254-356.
- WERNER, K., W. FRIEDT and F. ORDON, 2006: Localisation and combination of resistance genes against soil-borne viruses of barley (BaMMV, BaYMV) using doubled haploids and molecular markers. *Euphytica* 158, 323-329.

Einfluss von Genotyp und Umwelt auf den Blatt-Glucosinolatgehalt bei Raps

Stijn Cleemput^{1*} und Heiko C. Becker¹

Abstract

Glucosinolates are secondary plant metabolites, which are believed to have numerous functions in plant-pathogen interactions. In this study resynthesized rapeseed lines were examined for their variation in glucosinolate content in leaves and stems. Alkenyl glucosinolates are the most dominant glucosinolate group in the leaves (82%) followed by indolyl glucosinolates (17%) and phenylglucosinolates (1%). Only one resynthesized line shows a low alkenyl and high indolyl content in its leaves and stems, indicating a different gene action for indolyl and alkenyl synthesis in the green material. There was a significant correlation ($r^2=0.66$; $p=0.05$) between the content of glucosinolates in the stems and leaves. The glucosinolate content in the leaves varied considerably (0.16-4.64 $\mu\text{mol/g D.M.}$) with an average of 0.81 $\mu\text{mol/g D.M.}$ The average glucosinolate content in the stems was higher as in the leaves with a value of 1.29 $\mu\text{mol/g D.M.}$ The heritability of the total glucosinolates and the individual glucosinolate groups (alkenyl and indolyl) in the leaves and the stems was between 0.40 and 0.71.

Keywords: rapeseed, glucosinolate, alkenyl, resynthesized rapeseed

Einleitung

Ein zukünftiges Anwendungsgebiet von Raps könnte die Verwendung von Biomasse für die Biogasproduktion sein. Aufgrund des hohen Schwefelgehalts ist Raps dafür weniger geeignet. Glucosinolates sind schwefelhaltige Verbindungen und haben außerdem möglicherweise eine hemmende Wirkung auf Bakterien, welche für die Biogasproduktion verantwortlich sind. In dieser Arbeit wird die Vererbung in dem Grünmaterial der Rapspflanze untersucht.

Es ist zu vermuten, dass eine unterschiedliche genetische Kontrolle und Biosynthese der beiden Hauptgruppen, nämlich der Alkenyle und der Indol-Glucosinolates vorliegt (RÜCKER und RÖBBELEN 1994). Die Zusammenhänge zwischen den Alkenylen und Indolen werden in einem breiten genetischen Material untersucht.

Vor allem werden Resynthesen verwendet, die durch Artkreuzung zwischen Rübsen und Kohl hergestellt wurden. Es sollen die genotypische Varianz und der Einfluss der Umwelt in einem mehrortigen und mehrjährigen Feldversuch bestimmt werden.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Feldversuche

Das Ausgangsmaterial für die Feldversuche besteht aus 22 Resynthesen und einem Standard (Winterraps Express). Diese Population wurde 2008 in Einbeck und Göttingen angebaut. Die Pflanzen sind in Doppelreihen von 2 m Länge ausgesät worden. Im Frühjahr wurden Blatt- und Stängelproben geerntet. Aus Göttingen sind für zwei Jahre (2007 und 2008) Proben von einem Großteil der Population (14 Akzessionen) vorhanden, die ebenfalls im Frühjahr geerntet wurden. Für die Bestimmung der Heritabilität wird die Population um Kreuzungen erweitert, die 2008 an den gleichen beiden Standorten angebaut waren.

Extraktion und Bestimmung der Glucosinolates

Alle Proben wurden bei 55°C für 2 Tage getrocknet. Nach der Extraktion wurden die Glucosinolat-Gehalte mittels HPLC (Hochdruckflüssigkeitschromatografie) (THIES 1979) bestimmt. Neben dem Gesamtglucosinolatgehalt wurden auch die wichtigsten Glucosinolat-Typen der Alkenyl- (Progoitrin, Gluconapin, Glucobrassicinapin, Gluconapoleiferin) und Indol- (4-Hydroxyglucobrassicin, 4-Methoxyglucobrassicin, Neoglucobrassicin, Glucobrassicin) Gruppe bestimmt.

Ergebnisse

Glucosinolatmuster in den Blättern und Stängeln

Die Alkenyl- und Indol-Glucosinolates kommen sowohl in Stängeln als auch in Blättern vor. In den Blättern sind die Alkenylglucosinolates die dominante Glucosinolatgruppe (82%), gefolgt von Indol- (17%) und Phenyl-Glucosinolates (1%). Auch in den Stängeln dominieren die Alkenyl-Glucosinolates für Blatt und Stängel von 23 Akzessionen im Mittel der beiden Standorte.

Die Korrelationen zwischen Alkenyl- und Indol-Glucosinolates sind hoch signifikant ($r^2\text{Blatt}=0,57$ und $r^2\text{Stängel}=0,42$; $p=0,05$). Die Resynthese R53 zeigt als einzige Genotyp einen hohen Indol-Glucosinolatgehalt und einen niedrigen Alkenyl-Gehalt sowohl in den Blättern als auch in den Stängeln (*Abbildung 1*).

¹ Georg-August-Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Von-Siebold-Straße 8, D-37075 GÖTTINGEN

* Ansprechpartner: MSc. Stijn CLEEMPUT, scleemp@gwdg.de

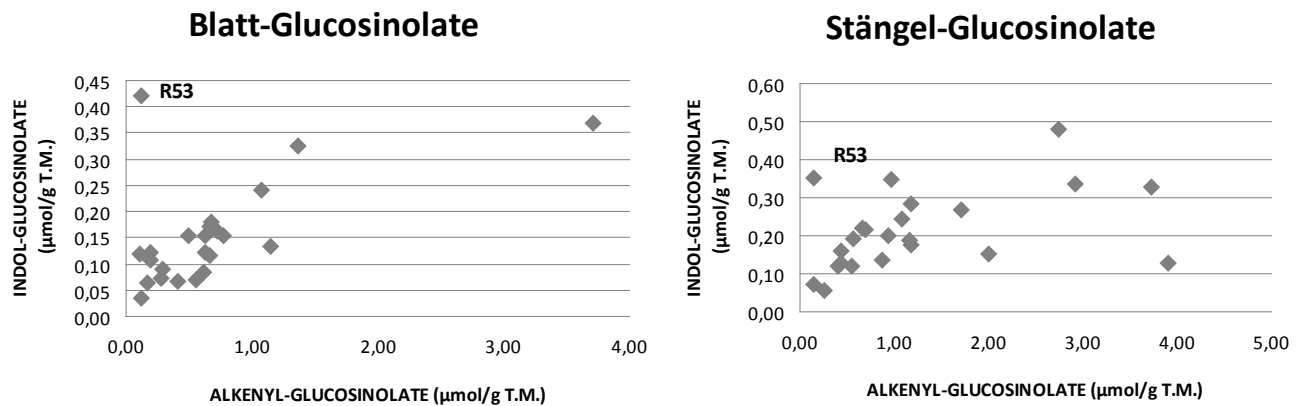


Abbildung 1: Zusammenhang zwischen Alkenyl- und Indol-Glucosinolate

Variation in Blatt und Stängel-Glucosinolaten im Resynthesierten Raps

Die Korrelation zwischen den Gesamt-Blatt- und Stängel-Glucosinolaten ist signifikant ($r^2=0,66$, $p=0,05$). *Abbildung 2* zeigt die Glucosinolatgehalte für die unterschiedlichen Resynthesen, wobei H4 in den Blättern den niedrigsten Wert (0,16 µmol/g TM) und S3 den höchsten Wert (4,64 µmol/g TM) aufweisen. Der Mittelwert aller Genotypen im Blatt-Glucosinolatgehalt ist 0,81 µmol/g TM und im Stängel-Glucosinolatgehalt 1,29 µmol/g TM.

Abbildung 3 zeigt die Werte für 14 Resynthesen in drei Umwelten. Der Mittelwert für Göttingen ist 1,14 µmol/g TM für das Anbaujahr 2007 und 1,37 µmol/g TM für 2008. Der Mittelwert für Einbeck in 2008 beträgt 0,93 µmol/g TM. Damit zeigt der Standort auf die Blatt-Glucosinolate einen höheren Einfluss als das Jahr. In allen drei Umwelten hat S3 den höchsten Wert.

Heritabilität

Die Heritabilität für Glucosinolate in Blättern und Stängeln ist im Allgemeinen relativ hoch (*Tabelle 1*). Die Variation für den Glucosinolatgehalt sowohl in den Blättern als auch in den Stängeln ist also stark genetisch bedingt. Die Heritabilität ist für die beiden Hauptgruppen (Alkenyle und Indole) vergleichbar hoch. Der Umwelteinfluss scheint für die Stängel-Indole im Vergleich zu den Blatt-Indolen eine geringere Rolle zu spielen.

Diskussion

In den Blättern und Stängeln von resynthetisiertem Raps sind Progoitrin, Gluconapin und Glucobrassicinapin die dominanten Glucosinolat-Typen. Dies bestätigt ähnliche Untersuchungen von BECKMANN et al. (2007). Im Allgemeinen sind Alkenyl- und Indol-Glucosinolate hoch korreliert, wobei die Resynthese R53 eine bemerkenswerte Ausnahme ist.

Obwohl signifikant korreliert, übersteigt der Stängelglucosinolatgehalt den Blattglucosinolatgehalt. Dies ist vermutlich auf unterschiedliche Transportwege der Glucosinolate in der Pflanze zurückzuführen (BENNERT 1992). Untersucht wurde sowohl der Standorteinfluss als auch der Jahreseinfluss. Der Einfluss der Jahre war nur gering, dies müsste aber durch Untersuchungen in weiteren Jahren bestätigt werden. Die Heritabilität für die Glucosinolate in den Blättern und Stängeln ist relativ hoch, wenn man berücksichtigt, dass für deren Berechnung ein Versuch ohne Wiederholung an einem Standort in zwei Jahren verwendet wurde.

Glucosinolate haben eine Bedeutung für den Schutz gegen Krankheiten (MITHEN 2001), Indol-Glucosinolate können außerdem eine physiologische Funktion haben (BENNERT 1992), die fungizide Wirkung der Alkenyl-Glucosinolaten ist dagegen nicht immer eindeutig (GIAMOUSTARIS and MITHEN 1997). Noch weniger bekannt ist über eine mögliche bakterizide Wirkung der Glucosinolate z.B. bei der Biogaserzeugung. Dazu sind weiterführende Untersuchungen vorgesehen.

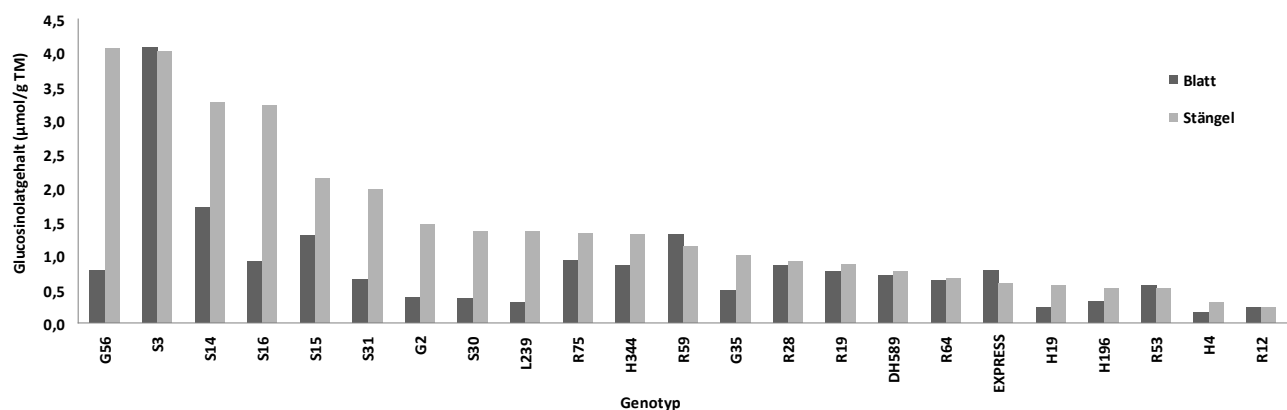


Abbildung 2: Genotypische Variation für Blatt und Stängel-Glucosinolate, Mittel über 2 Standorte

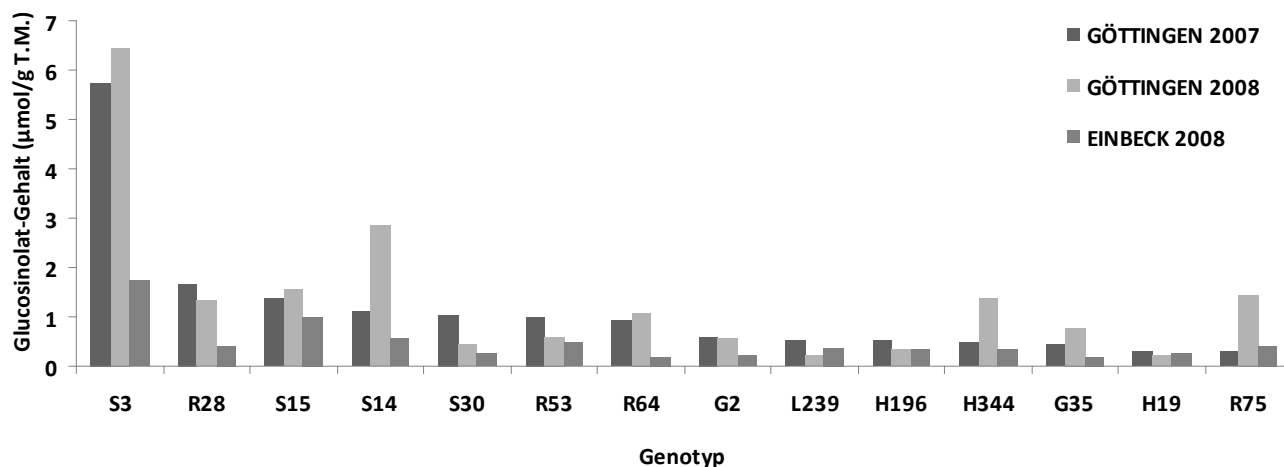


Abbildung 3: Genotypische Unterschiede für Blatt-Glucosinolate in drei unterschiedlichen Umwelten

Tabelle 1: Heritabilität für die Glucosinolate und Glucosinolatgruppen in den Blättern und Stängeln

Pflanzenteil	N	Progoitrin	Alkenyl-Glucosinolate	Indol-Glucosinolate	totale Glucosinolate
Stängel	58	0,54	0,50	0,71	0,54
Blätter	62	0,54	0,53	0,56	0,40

Danksagung

Unser Dank gilt der DBU (Deutsche Bundesstiftung Umwelt) für die finanzielle Unterstützung und der KWS Saat AG für die Betreuung der Feldversuche in Einbeck.

Literatur

- BECKMANN, K., C. MÖLLERS, H.C. BECKER and F.J. KOPISCH-OBUCH, 2007: Genetic variation of glucosinolates in young leaves of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) Proceedings 12th International Rapeseed Congress, Wuhan, China, 258-260.
- BENNERT, H., 1992: Variation des Glucosinolatgehaltes und -Musters bei Raps (*Brassica napus* L.) in Abhängigkeit von Genotyp

und Pflanzenentwicklung. Dissertation, Freie Universität Berlin, Deutschland.

- GIAMOUSTARIS, A. and R. MITHEN, 1997: Glucosinolates and disease resistance in oilseed rape (*Brassica napus* ssp. *oleifera*). Plant pathology 46: 271-275.
- MITHEN, R., 2001: Glucosinolates - biochemistry, genetics and biological activity. Plant Growth Regulation 34: 91-103.
- RÜCKER, B. and G. RÖBBELEN 1994: Inheritance of total and individual glucosinolate contents in seeds of winter oilseed rape (*Brassica napus* L.). Z. Pflanzenzüchtg. 113: 206-216.
- THIES, W., 1979: Quantitative analysis of glucosinolates after their enzymatic desulfatation on ion exchange columns. Proceedings of the 5th International Rapeseed Conference, Malmö Sweden, 136-139.

Raps als Modell zur Untersuchung der „fixierten Heterosis“ bei allopolyploiden Pflanzen

Franziska Wespel^{1*} und Heiko C. Becker¹

Zusammenfassung

Allopolyploidie spielte bei der Evolution der Pflanzen eine große Rolle. Die hohe Leistung allopolyploider Pflanzen kann unter anderem mit günstigen Wechselwirkungen zwischen den homeologen Genen der Elternlinien („fixierte Heterosis“) erklärt werden. Durch eine vergleichende QTL-Analyse zwischen resynthetisiertem Raps (*Brassica napus*) und seinen diploiden Elternlinien (*Brassica rapa* und *Brassica oleracea*) sollen Loci detektiert werden, die zur Ausprägung von fixierter Heterosis beitragen. Hierzu wurden drei segregierende RIL-Populationen entwickelt und auf ihre Biomasseleistung hin untersucht. Für die Markeranalyse werden AFLP-Marker sowie Mikrosatelliten verwendet, um einen Vergleich mit anderen Arbeitsgruppen zu ermöglichen.

Abstract

We propose an experimental approach to quantify “fixed heterosis” in resynthesized *Brassica napus* and to detect loci contributing to “fixed heterosis” via comparative QTL mapping in *B. napus* and its parental species *B. rapa* and *B. oleracea*. To identify the contribution of individual genes to the fixed heterosis by QTL mapping, three segregating RIL populations were developed and analyzed for early biomass. The marker analysis will be performed with AFLPs and SSR markers allowing a comparison with results of groups working with *Brassica* and *Arabidopsis*.

Key words: fixed heterosis, allopolyploidy, QTL-analysis, *Brassica*, early biomass

Die spontane Hybridisierung verwandter Arten durch Kombination ihrer Genome (Allopolyploidie) spielte bei der Evolution der Pflanzen eine wichtige Rolle. Trotzdem sind die Mechanismen für den Erfolg der Allopolyploiden noch kaum verstanden (OSBORN et al. 2003, SOLTIS and SOLTIS 2000). Ein Grund für ihren Erfolg könnten die positiven Interaktionen zwischen den homologen Chromosomen sein. Positive Interaktionen zwischen den homeologen Loci sollten auch bei homozygoten Genotypen zu einer Mehrleistung der Allopolyploiden im Vergleich zu ihren Elternlinien führen (Abbildung 1). Da diese epistatischen Interaktionen im Gegensatz zur klassischen Heterosis nicht in der F1 aufspalten, werden sie als „fixierte Heterosis“ bezeichnet (ABEL et al. 2005). *Brassica napus* (mit seiner Genomzusammensetzung AAC) ist ein optimales Modellsystem, um fixierte Heterosis mit Hilfe eines QTL-Mappings genauer zu untersuchen, da hier neue Resynthesen einfach aus den diploiden Elternarten *B. rapa* (AA) und *B. oleracea* (CC) hergestellt werden können.

Für die Untersuchungen wurden eine *Brassica rapa* var. *trilocularis* Linie (RO18 = A₁A₁) vom John Innes Center, eine *Brassica rapa* var. *oleifera* Linie (6748-1430 = A₂A₂) von Agri Food Canada und zwei *Brassica oleracea* var. *albobolabra* Linien (A12 = C₂C₃ and S2C3-4-1 = C₄C₄) (John Innes Center und Crucifer Genet. Cooper.) verwendet. Die Linien sind entweder Doppelhaploide oder Inzuchtlinien. Die vier Linien wurden anhand der fixierten Elternmittelheterosis von 49,9% und 70,5% ausgewählt, die die daraus resynthetisierten Genotypen A₁A₁C₃C₃ and A₂A₂C₄C₄ aufzeigten.

So wurden, um den Beitrag einzelner Gene zur fixierten Heterosis mit QTL-Mapping zu messen, drei segregierende

A: Klassische Heterosis

$$\frac{X \ y \ Z}{X \ y \ Z} \times \frac{x \ Y \ z}{x \ Y \ z} \rightarrow \frac{X \ y \ Z}{x \ Y \ z}$$

Hybrid

B: Fixierte Heterosis

$$\frac{X \ y \ Z}{X \ y \ Z} + \frac{x \ Y \ z}{x \ Y \ z} \rightarrow \frac{X \ y \ Z}{X \ y \ Z} \frac{x \ Y \ z}{x \ Y \ z}$$

Allopolyploid

Abbildung 1: Vergleich von klassischer und fixierter Heterosis

Populationen aus rekombinanten Inzuchtlinien (RIL) in F5/F6 erstellt. Zwei in den diploiden Elternlinien, die je für das A- und C-Genom aufspalten (A₁A₂, C₃C₄) und eine Dritte, die aus der korrespondierenden Allopolyploiden (A₁A₂C₃C₄) erstellt wurde. Diese spaltet für Loci in beiden Genomen auf. In den diploiden Populationen wurden 150 RIL genotypisiert und phänotypisiert und in der allopolyploiden waren es 222 RIL, um eine vergleichbare Detektionsstärke zu gewährleisten.

Für die phänotypischen Daten der QTL-Analyse wurde die frühe Biomasse der RIL bestimmt. Das Merkmal frühe Biomasse wurde gewählt, da aufgrund der hohen Inzuchtgeneration der getesteten Linien Schwierigkeiten bei Blühverhalten, Fertilität und Saatgutentwicklung erwartet wurden. Die Anzucht der Pflanzen erfolgte unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus. Jeweils acht Pflanzen je RIL wurden in vier Wiederholungen in einer unvollständigen Gitteranlage, die mit Plabplan (UTZ 1994) erstellt wurde, getestet. Die Ernte der oberirdischen Biomasse erfolgte

¹ Georg-August-Universität, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Von-Siebold-Straße 8, D-37075 GÖTTINGEN

* Ansprechpartner: Dipl. Agr. Biol. Franziska WESPEL, fwespel@gwdg.de

Tabelle 1: Adjustierte Mittelwerte (Mean), Grenzwerte bei 5% (LSD), Extremwerte (Min, Max) und Ergebnisse der Varianzanalyse für die bestimmten Merkmale Frischmasse (FM), Trockenmasse (TM) und Wachstumsrate (FM 2-FM 1, TM 2-TM 1) in den drei RIL Populationen

Merkmale	Mean	LSD	Min	Max	Var. komp.	F-Wert
A₁A₂						
FM 1	1.04	0.39	0.31	1.90	0.0487	3.25 **
TM 1	0.07	0.03	0.02	0.13	0.0002	2.95 **
FM 2	2.30	0.67	0.87	3.68	0.2452	5.10 **
TM 2	0.17	0.05	0.05	0.26	0.0012	4.82 **
FM 2 - FM 1	1.26	0.71	0.48	2.16	0.0853	2.21 **
TM 2 - TM 1	0.09	0.05	0.03	0.17	0.0005	2.30 **
C₃C₄						
FM 1	0.84	0.23	0.40	1.26	0.0179	3.52 **
TM 1	0.06	0.02	0.03	0.09	0.0001	2.83 **
FM 2	1.69	0.41	1.05	2.48	0.0596	3.79 **
TM 2	0.13	0.03	0.08	0.18	0.0004	3.52 **
FM 2 - FM 1	0.85	0.42	0.34	1.60	0.0129	1.57 **
TM 2 - TM 1	0.07	0.03	0.02	0.13	0.0001	1.54 ns
A₁A₂C₃C₄						
FM 1	1.40	0.57	0.19	2.44	0.1313	4.10 **
TM 1	0.09	0.04	0.02	0.18	0.0006	3.86 **
FM 2	2.96	1.10	0.87	5.39	0.4143	3.62 **
TM 2	0.20	0.08	0.06	0.38	0.0023	3.79 **
FM 2 - FM 1	1.57	1.13	0.22	3.46	0.0713	1.43 *
TM 2 - TM 1	0.11	0.10	0.00	0.49	0.0005	1.41 *

** signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,01, * signifikant bei 0,05 und + signifikant bei 0,10

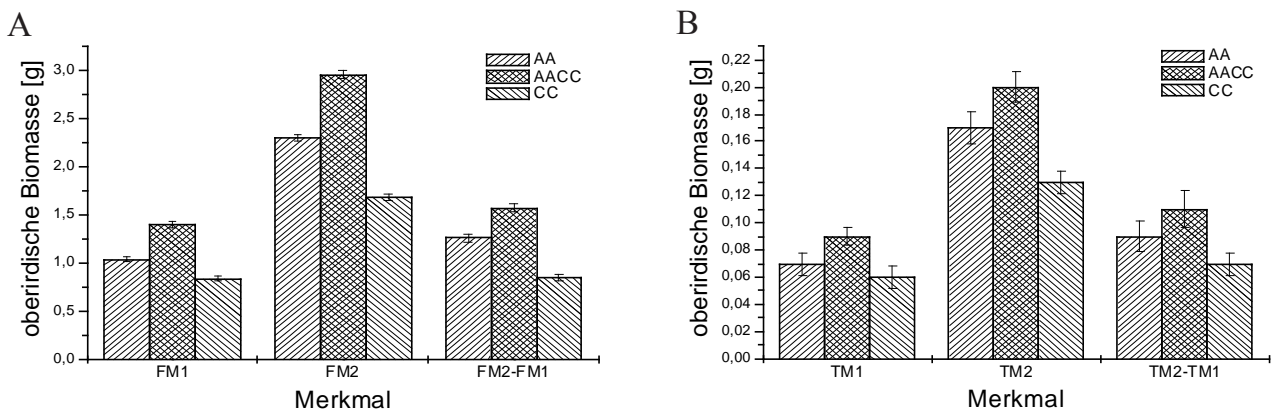


Abbildung 2: Vergleich der adjustierten Mittelwerte für Frischmasse (A) und Trockenmasse (B) in den RIL-Populationen A1A2, A1A2C3C4 und C3C4; (Konfidenzintervall 95%)

18 und 22 Tage nach der Aussaat. Als Merkmale wurde die Frischmasse (FM), Trockenmasse (TM) zu beiden Erntezeitpunkten erfasst und die absolute Wachstumsrate (FM2-FM1, TM2-TM1) zwischen beiden Ernteterminen bestimmt. Die Varianzanalyse und Korrelationen wurden mit Plabstat (UTZ 2004) berechnet.

Zwischen den verschiedenen Genotypen der drei untersuchten Populationen wurde bei allen Merkmalen bis auf TM1-TM2 in C₃C₄ ein signifikanter Unterschied beobachtet (Tabelle 1).

Vergleicht man das Mittel der A₁A₂ und C₃C₄ Linien mit dem Mittel der A₁A₂C₃C₄ Linien, so wiesen letztere eine größere Biomasse für die Frisch- und Trockenmasse an beiden Erntezeitpunkten auf (Abbildung 2).

In allen drei RIL-Populationen waren Frisch- und Trockenmasse beider Erntezeitpunkte hochkorreliert. Ebenso sind die Ergebnisse der beiden Erntezeitpunkte mit 0,72 bis 0,81 miteinander korreliert (Tabelle 2).

Der Trockensubstanzgehalt betrug zum ersten Erntezeitpunkt 6,7% bei A₁A₂, 7,1% bei C₃C₄ und 7,1% bei A₁A₂C₃C₄. Zum zweiten Erntezeitpunkt war der Trockensubstanzgehalt bei A₁A₂ 7,4%, bei C₃C₄ 7,7% und 7,1% bei A₁A₂C₃C₄.

In unserem Projekt wurden für die Biomasseversuche und den Vergleich mit den Resynthesen diploide Linien statt autotetraploider verwendet, da die Autotetraploiden weniger fertil und wüchsig waren als die Diploiden. So haben ABEL und BECKER (2007) beobachtet, dass tetraploide Linien einen um 2-64% geringeren Biomasse aufwiesen als die korrespondierenden diploiden Linien. Dies könnte auf Meiosestörungen hindeuten und Schwierigkeiten bei der Entwicklung der RILs und auch bei der Markeranalyse und Interpretation der Ergebnisse verursachen.

Des Weiteren hatten die Diploiden und Allopolyploiden einen ähnlichen Trockensubstanzgehalt, was mit den Beob-

Tabelle 2: Korrelationen zwischen Trockenmasse und Frischmasse

Variable	FM 1	TM 1	FM 2
TM 1	0.95 **		
FM 2	0.79 **	0.73 **	
TM 2	0.73 **	0.72 **	0.96 **
C3C4			
TM 1	0.95 **		
FM 2	0.78 **	0.72 **	
TM 2	0.73 **	0.72 **	0.95 **
A1A2C3C4			
TM 1	0.97 **		
FM 2	0.81 **	0.78 **	
TM 2	0.80 **	0.80 **	0.97 **

** Signifikant mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 0,01, * signifikant bei 0,05 und + signifikant bei 0,10

achtungen von ABEL und BECKER (2007) übereinstimmt, die ebenfalls keinen signifikanten Effekt des Ploidiegrades auf den Trockensubstratgehalt feststellen konnten.

In den Biomasseversuchen wiesen die Allopolyploiden eine signifikant höhere Biomasse auf als die Diploiden (Abbildung 2), somit ist das von uns ausgewählte Material geeignet, um QTL für fixierte Heterosis zu identifizieren. Für eine QTL-Analyse ist es außerdem notwendig, dass es Unterschiede zwischen den RILs einer Mappingpopulation gibt. So war hier die Variation innerhalb einer Population hochsignifikant und die Linien der A₁A₂ Population zeigten eine höhere Variabilität als die RIL der C₃C₄ Population. Dies stimmt mit der von ABEL et al. (2005) bestimmten genetischen Distanz nach Jaccard von 0,741 für A₁ und A₂ und von 0,313 für C₃ und C₄ überein.

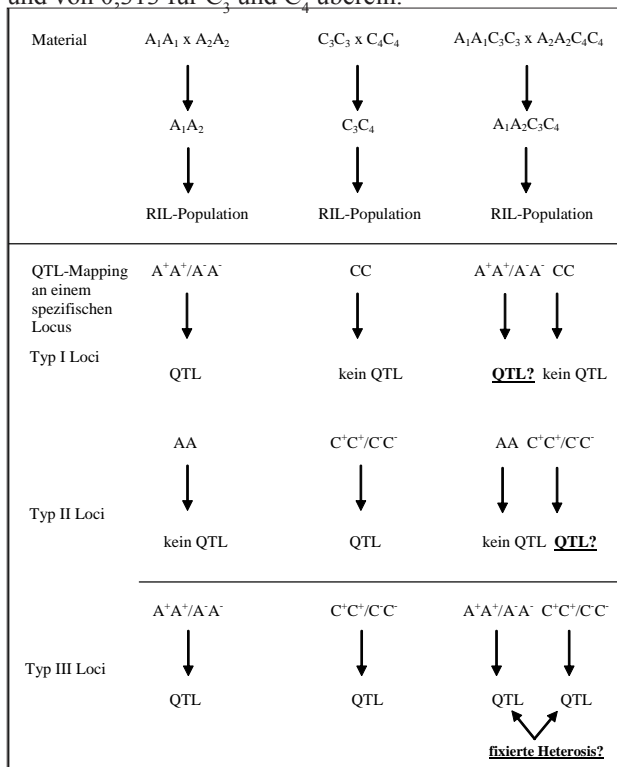


Abbildung 3: Prinzipien des QTL-Mappings um fixierte Heterosis zu analysieren (Erläuterungen siehe Text).

Für die Markeranalysen wurden AFLP und SSR Marker verwendet. AFLPs sind eine günstige und schnelle Methode, um DNA-Polymorphismen zu detektieren und eine Frameworkmap zu erstellen (VOS et al. 1995). Die zusätzlich verwendeten SSR-Marker sind möglichst gleichmäßig über das Genom verteilt, um ein Alignment mit anderen Kopplungskarten zu ermöglichen und die Chromosomen zu ordnen zu können. So wurden schon in früheren Studien (SAAL et al. 2001) Mikrosatellitenmarker in *B. oleracea*, wie auch in *B. rapa* und *B. napus*, angewandt, um erfolgreich die homeologen Beziehungen aufzuzeigen. Eine Kopplungskarte, basierend auf molekularen Markern, die es erlauben, zwischen homologen und homeologen Regionen zu unterscheiden, ist notwendig für eine vergleichende Analyse in *Brassica*-Arten.

In den Populationen von A₁A₂ und C₃C₄ wurden bereits QTL für Biomasse detektiert (Daten werden hier nicht gezeigt) und wir hoffen, dieselben QTL in der A₁A₂C₃C₄ Population zu finden. Für die beobachteten QTL können drei verschiedene Fälle klassifiziert werden (Abbildung 3): QTL, die im A-Genom detektiert werden, aber nicht an der korrespondierenden Position im C-Genom (I). QTL, die im C-Genom detektiert werden, aber nicht an der entsprechenden Position des A-Genoms (II) und QTL die sowohl im A-Genom als auch im C-Genom an den korrespondierenden Positionen bestimmt werden. Das Prinzip des QTL-Mappings ist es, jene QTL, die jeweils im A- und C-Genom identifiziert wurden, mit denselben QTL in der allopolyploiden Situation zu vergleichen. Unter der Annahme von fixierter Heterosis sollten sich die Effekte bei der Allopolyploiden unterscheiden. Zumindest einige der QTL, die nur im A-Genom (I) detektiert wurden, sollten in der Allopolyploiden nicht mehr nachweisbar sein, da das C-Genom ein positives Allel mit maskierendem Effekt auf das andere Genom haben könnte. Entsprechend sollten einige der QTL, die im C-Genom (II) detektiert werden, verschwinden, da sie von positiven Allelen im A-Genom maskiert werden. QTL, die jedoch in beiden Genomen (III) detektiert werden, sollten nicht verschwinden, aber es sollte epistatische Effekte zwischen ihnen geben, da (A⁺A⁺C⁻C⁻ + A⁻A⁻C⁺C⁺) eine größeren Effekt haben sollte als (A⁺A⁺C⁺C⁺ + A⁻A⁻C⁻C⁻) (Tabelle 3). Da in unserem Versuch nur homozygote Linien verwendet wurden, können nur additive Effekte und additive x additive Epistasie auftreten. In der Annahme, dass nur additive Geneffekte (keine Epistasie/fixierte Heterosis) auftreten, sollten alle im A- und C-Genom detektierten QTL dieselben Effekte in der allopolyploiden Situation aufweisen. Sollte es jedoch Unterschiede geben, so ist dies ein Hinweis auf fixierte Heterosis. Diese Annahmen sind nur gültig, wenn der Effekt eines negativen Allels in einem Genom vollständig durch

Tabelle 3: Mögliche Allelkombinationen in der Allopolyploiden an zwei homeologen Loci und das erwartete Auftreten von fixierter Heterosis

Genotyp	fixierte Heterosis
A ⁻ A ⁺ C ⁺ C ⁺	nein
A ⁻ A ⁻ C ⁻ C ⁻	nein
A ⁺ A ⁺ C ⁻ C ⁻	ja
A ⁻ A ⁻ C ⁺ C ⁺	ja

ein positives Allel im anderen kompensiert werden kann, ansonsten wird der QTL nicht vollständig verschwinden, sondern nur einen geringeren Effekt haben.

Mit diesem Ansatz wird es möglich sein, zumindest einige QTL für fixierte Heterosis zu identifizieren, die dann in weiteren Forschungsvorhaben detaillierter untersucht werden können. Durch die Verwendung der SSR-Marker wird außerdem ermöglicht, unsere Ergebnisse mit den Ergebnissen von QTL-Mappings in anderen Arbeitsgruppen zu vergleichen, die mit *Brassica* oder *Arabidopsis* arbeiten. Dies alles wird dazu beitragen, den Einfluss der fixierten Heterosis auf den Erfolg von Allopolyploiden besser zu verstehen.

Danksagung

Stefan ABEL, Roland STÜBE, Torben SCHULZ-STREECK.
Diese Arbeit wird im Rahmen des Forschungsschwerpunktes „Heterosis in Plants“ von der DFG finanziert.

Literatur

- ABEL, S. and H.C. BECKER, 2007: The effect of autopolyploidy on biomass production in homozygous lines of *Brassica rapa* and *Brassica oleracea*. *Plant Breeding* 126:642-643.
- ABEL, S., C. MÖLLERS and H.C. BECKER, 2005: Development of synthetic *Brassica napus* lines for the analysis of „fixed heterosis“ in allopolyploid plants. *Euphytica* 146:157-163.
- OSBORN, T.C., J.C. PIRES, J.A. BIRCHLER, D.L. AUGER, Z.J. CHEN, H.S. LEE, L. COMAI, A. MADLUNG, R.W. DOERGE, V. COLOT and R.A. MARTIENSSEN, 2003: Understanding mechanisms of novel gene expression in polyploids. *Trends in Genetics* 19:141-147.
- SAAL, B., J. PLIESKE, J. HU, C.F. QUIROS and D. STRUSS, 2001: Microsatellite markers for genome analysis in *Brassica*. II. Assignment of rapeseed microsatellites to the A and C genomes and genetic mapping in *Brassica oleracea* L. *Theoretical and Applied Genetics* 102:695-699.
- SOLTIS, P.S. and D.E. SOLTIS, 2000: The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 97:7051-7057.
- UTZ, H.F., 1994: Plabplan, Computerprogramm zum Erstellen von Plänen für Block- und Gitteranlagen. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik der Universität Hohenheim, Stuttgart.
- UTZ, H.F., 2004: PLABSTAT. Ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten. Version 3. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim.
- VOS, P., R. HOGERS, M. BLEEKER, M. REIJANS, T.V.D. LEE, M. HORNES, A. FRITERS, J. Pot, J. PALEMAN, M. KUIPER and M. ZABEAU, 1995: AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl. Acids Res.* 23:4407-4414.

Einflussfaktoren auf den samenbürtigen Infektionskreislauf bei Streifenkrankheit und Netzfleckenkrankheit der Gerste

Manfred Weinhappel^{1*}, Charlotte Leonhardt¹, Ivoneta Diethart² und Wilfried Hartl²

Abstract

Factors influencing the seed borne infection cycle of leaf stripe disease were investigated in a three-year project. Important factors concerning the relationship between seed and field infection levels are environmental conditions (e.g. low temperature during field emergence) on one hand, as well as varieties showing a wide variation in susceptibility. Furthermore significant differences between varieties have been detected, concerning the infection level of the harvested seeds of plots which were neighboured by high infected field, but none of the tested varieties was resistant in this part of the infection cycle.

The results of the studies on net blotch confirmed the importance of the seed borne component of this disease. Especially in early growing stages the disease is highly influenced by the seed infection level. During the growing season factors like variety and environment gain in importance, nevertheless the statistical analysis indicated significant influence of the seed infection in late growing stages as well. The observed yield reduction could be verified by statistical methods in some cases.

Key words:

seed infection, leaf stripe disease, net blotch, field infection rate

Einleitung

Im Rahmen eines Forschungsprojekts von 2005 bis 2007 wurden die Bedeutung und die Einflussfaktoren auf die Samenbürtigkeit bei Streifen- und Netzfleckenkrankheit unter den Bedingungen des biologischen Landbaus untersucht.

Hauptaugenmerk bei den Arbeiten zur Streifenkrankheit (*Drechslera graminea*) lag in der Bestimmung und Quantifizierung der Einflussfaktoren des obligat samenbürtigen Infektionszyklus wie z.B. Höhe der Saatgutinfektion, Vegetationsbedingungen, Ausmaß des Einflusses von infizierten Nachbarparzellen oder Sortenausprägungen. Speziell Keimtemperatur und Sortenresistenz/-toleranz werden als sehr wichtige Einflussfaktor beschrieben. (WALTHER 1980, MÜLLER 2006, NIELSEN 2002)

Netzfleckenkrankheit (*Drechslera teres*) weist ebenfalls eine samenbürtige Komponente auf, wird jedoch auch über weitere Vektoren beeinflusst. Speziell unter den

Bedingungen des biologischen Landbaus ist jedoch auch die Samenbürtigkeit dieser Krankheit von entscheidender Bedeutung. Die Rolle der Samenbürtigkeit der Netzfleckenkrankheit wurde insbesondere in skandinavischen Ländern in letzter Zeit ebenfalls bearbeitet (PINNSCHMID et al. 2005, BRODAL 2006).

Material und Methode

Von 2005 bis 2007 wurden insgesamt 8 Versuche zur Streifenkrankheit durchgeführt, die Versuchsstandorte deckten weitgehend die Sommergerste-Hauptanbauggebiete Österreichs ab.

Das verwendete Sortenspektrum umfasste jene 10 Sommergerstensorten, die zum Projektstart die größte Anbaubedeutung im biologischen Landbau in Österreich hatten. Die Anlage der Versuche erfolgte in einer adaptierten Split-plot Anlage in vierfacher Wiederholung (*Abbildung 1*). Die wichtigsten erfassten Parameter waren:

- Saatgutinfektion mit *Drechslera graminea*
- Feldebfall mit Streifenkrankheit der Gerste
- Infektionsgrad des Erntegutes mit *Drechslera graminea*

Zum Projektteil **Netzfleckenkrankheit** wurden insgesamt zwölf Versuche in denselben Anbaugebieten wie bei der Streifenkrankheit durchgeführt. Saatgut mit drei unterschiedlichen Infektionsniveaus (niedrig - mittel - hoch) und vier Sorten mit unterschiedlichen Anfälligkeitsausprägungen gegenüber Netzfleckenkrankheit wurden verwendet. Die wichtigsten erfassten Parameter waren:

- Saatgutinfektion mit *Drechslera teres*
- Infektionsausmaß im Zwei- bis Dreiblattstadium
- Zwei (drei) weitere Bonituren im Laufe der Vegetationsperiode am Feld

Für die Saatgutuntersuchungen wurde die Agar-Methode gemäß ISTA Working Sheet No. 6 (ANONYMUS 1) angewendet.

Ergebnisse und Diskussion

Das Infektionsausmaß mit Streifenkrankheit an den Erntegutproben von gesunden Parzellen, allerdings benachbart von befallenen Parzellen, schwankte stark und war signifikant unterschiedlich zwischen den Jahren und Orten. Der durchschnittliche Infektionsgrad mit Streifenkrankheit der Gerste lag zwischen 1,6% und 31,1% (*Tabelle 1*). Bei Erntegut von Parzellen, die bereits mit *Drechslera graminea* infiziert

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Saatgut, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

² Bio Forschung Austria, Rinnböckstraße 15, A-1110 WIEN

* Ansprechpartner: Dipl.-HLFL-Ing. Manfred WEINHAPPEL, manfred.weinhappel@ages.at

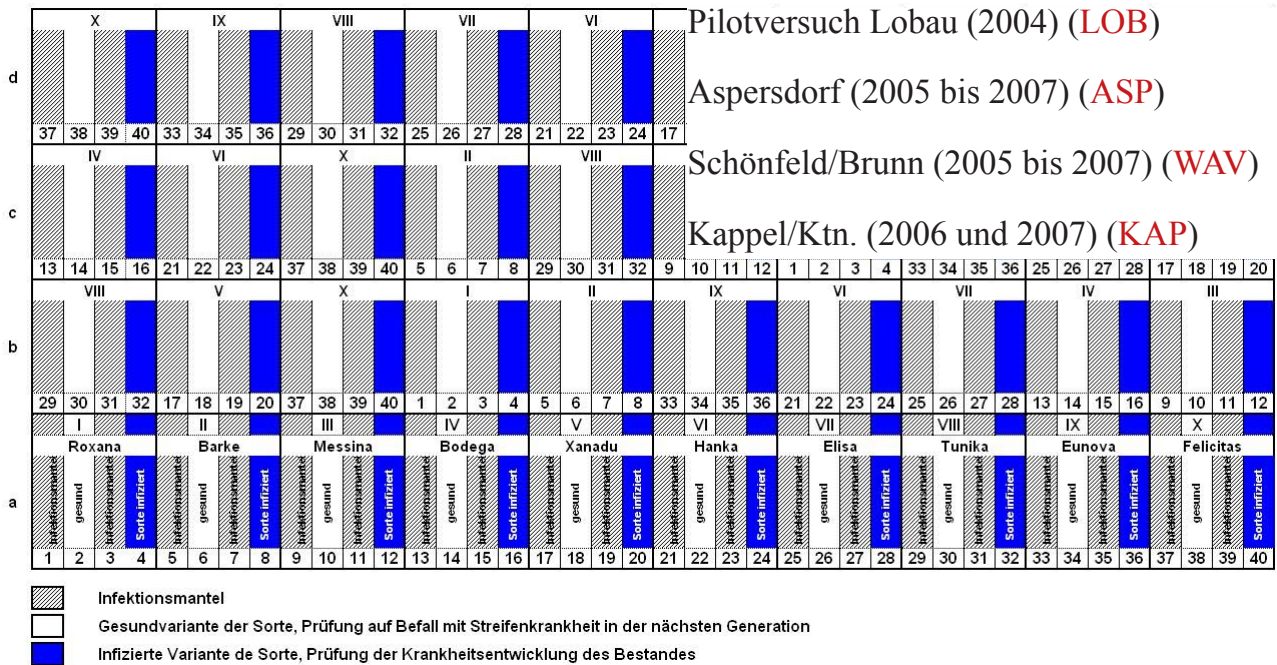


Abbildung 1: Anbauplan der Streifenkrankheitsversuche 2005-2007

Tabelle 1: Durchschnittlicher Befall des geernteten Saatguts mit *Drechslera graminea* abhängig vom Gesundheitsstatus des Feldbestandes und abhängig von Jahr und Ort

	ASP 2005	ASP 2006	WAV 2006	Anbauort und -jahr			LOB 2004
				KAP 2006	ASP 2007	WAV 2007	
gesunde Parzellen	4,0%	12,9%	1,6%	31,1%	2,6%	6,2%	15,3%
befallene Parzellen	6,1%	14,8%	2,3%	-N-	3,2%	6,5%	19,4%

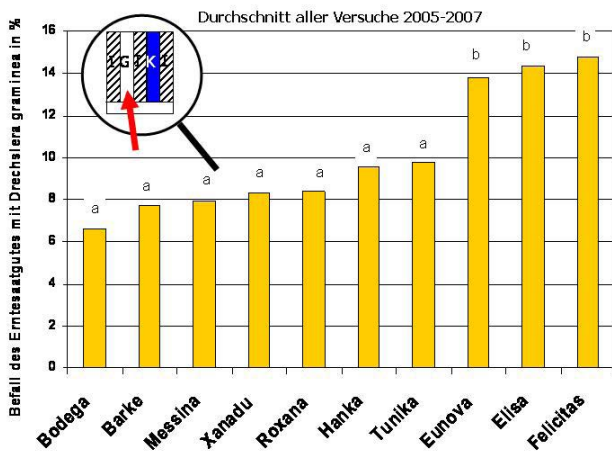


Abbildung 2: Befall mit *Drechslera graminea* des Erntegutes der Gesundenparzellen in Abhängigkeit der Sorte

waren, konnte keine weitere deutliche Erhöhung des Befalls mehr festgestellt werden im Vergleich zu zwar selbst gesunden Parzellen, die aber von erkrankten Parzellen benachbart waren. Die Befallswerte des Erntegutes wurden weiters mittels ANOVA und Duncan-Test verrechnet. Die Befallswerte des Erntegutes von ursprünglich gesunden Parzellen, die aber von erkrankten Parzellen umgeben sind, zeigten auch im Hinblick auf den Faktor „Sorte“ Signifikanz. Bei drei der Sorten konnten signifikant höhere Befallswerte festgestellt werden (Abbildung 2). Weiters war über die gesamte Ver-

suchsserie von 2005 bis 2007 war die Rangfolge der Sorten hinsichtlich des Erntegutbefalles vergleichbar.

Das Verhältnis von Saatgutbefall zu Feldbefall war bei nahezu allen Versuchen im Rahmen dieses Projektes auf durchschnittlichem bis niedrigem Niveau, bedingt durch den relativ spät ermöglichten Anbau 2005 und 2006 bzw. die überdurchschnittlich hohen Aufgangstemperaturen speziell 2005 und 2007. Bei früheren Streifenkrankheitsversuchen (mit ein bis zwei anfälligen Sorten) zu anderen Fragestellungen wurde häufig (v.a. bei frühen Anbau Terminen) ein Verhältnis Saatgutbefall zu Feldbefall von 1:0,8 und fallweise auch höher festgestellt (WEINHAPPEL 2004).

Im Rahmen der Bewertung des Feldbefalles der Infiziert-Varianten wurden auch Prüfglieder festgelegt, wo trotz entsprechend hohem Ausgangssaatgutbefall kein bzw. sehr niedriger Feldbefall festgestellt wurde (Abbildung 3). Insbesondere bei der Sorte Hanka war dies ausgeprägt. Die Sorten Tunika und Felicitas, als auch Xanadu, Eunova und Elisa wiesen ebenfalls, trotz hoher Saatgutinfektion, hohe Ausbreitungstoleranz im Feldbestand auf. Die im Projekt geprüften Sorten zeigen in dieser Eigenschaft breite Differenzierungen auf. Diese Ergebnisse als auch die Sortenrangfolge decken sich recht gut mit den Ergebnissen aus anderen Projekten (MÜLLER 2006, NIELSEN 2002).

Die Projektversuche zeigten, dass das Infektionsausmaß mit Netzfleckenkrankheit der Gerste (*Drechslera teres*) in frühen Entwicklungsstadien (EC12-13) hoch signifikant vom Befall des Saatgutes abhängig ist. In diesen frühen

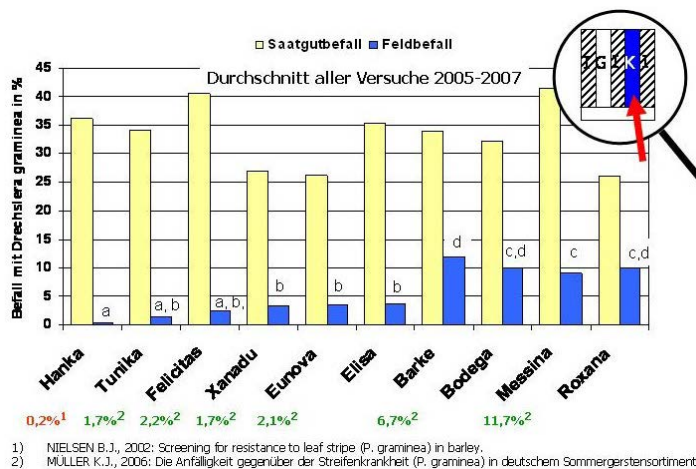


Abbildung 3: Zusammenhang zwischen Saatgutbefall und Befall des Feldbestandes in Abhängigkeit der Sorte

Entwicklungsstadien konnte beim Faktor „Sorte“ kein nachweisbarer Einfluss festgestellt werden. Im Zuge des fortschreitenden Vegetationsverlaufes stieg der Einfluss der Sortenanfälligkeit und der am Versuchsstandort herrschenden Vegetationsbedingungen an. Nichts desto trotz blieb auch bei späteren Boniturterminen bei den meisten Versuchen eine Abhängigkeit des Befalles mit Netzfleckenkrankheit basierend auf den Befall des Ausgangssaatgutes evident, insbesondere bei Bedingungen, die für die Entwicklung der Netzfleckenkrankheit generell förderlich sind.

Ein Durchwirken der Saatgutinfektion letztendlich hin bis zum Ertrag war in der überwiegenden Zahl der Versuche arithmetisch eruiert. Mehrerträge von der Variante „Saatgutbefall niedrig“ zur Variante „Saatgutbefall hoch“ von 100-250 kg wurden oftmals errechnet, wobei diese Differenzen nicht immer statistisch abgesichert werden konnten.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der Streifenkrankheitsversucher zeigten, dass die Höhe der Erntegutinfektion (=das Saatgut für die

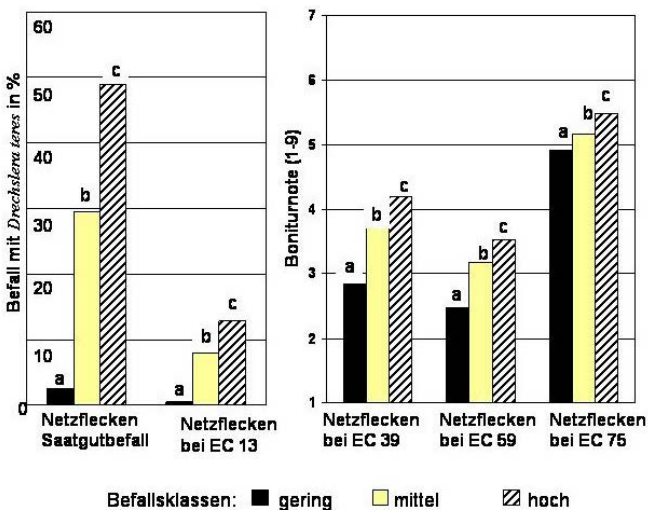


Abbildung 4: Einfluss unterschiedlicher Saatgutbefallshöhen auf die Etablierung der Netzfleckenkrankheit der Gerste im Bestand

nächste Generation) neben der Befallshöhe im Bestand selbst wesentlich von der Infektion der Nachbarfelder, den Umweltbedingungen während der Vegetationsphase, dem Anbauort und der Sorte abhängt. Darüber hinaus zeigten sich deutliche Unterschiede im Hinblick auf den Zusammenhang zwischen Saatgut- und Feldinfektion; bestimmte Sorten erkrankten am Feld nur sehr gering, obwohl das Saatgut in hohem Maß infiziert war.

Im Rahmen der Arbeiten konnte bei Netzfleckenkrankheit der Gerste ein sehr starker Zusammenhang zwischen Saatgutbefall und Infektionsausmaß von Jungpflanzen festgestellt werden. Speziell in frühen Entwicklungsstadien ist das Ausmaß der Saatgutinfektion der wichtigste Einflussfaktor.

Während der weiteren Bestandes- bzw. Krankheitsentwicklung gewinnen jedoch andere Kriterien wie „Sorte“ oder „Umwelteinflüsse“ an Bedeutung, der Einfluss des Saatgutbefalles blieb jedoch bis zu einem gewissen Grad evident.

Speziell für den biologischen Anbau zeigten die Projektarbeiten, dass die Gesundheit des Saatgutes eine wichtige vorbeugende Maßnahme zur Vermeidung dieser Krankheiten darstellt. Ein weiterer wichtiger Aspekt von gesundem Saatgut ist die Sicherstellung eines hohen phytosanitären Niveaus in den einzelnen Anbauregionen.

Danksagung

Ein spezieller Dank gilt dem Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt- und Wasserwirtschaft sowie den Bundesländern, die dieses Projekt finanzierten.

Literatur

ANONYMUS 1, 1981: ISTA Handbook on Seed Health Testing. Section 2 Working Sheets. Intern. Seed Testing Association, Zürich, Switzerland.

BRODAL, G. and B. HENRIKSEN, 2006: Thresholds for seed borne diseases in organic cereal seed. Proceedings of the 3rd Seed Health Conference 2006 in Bydgoszcz, Poland, 51.

MÜLLER, K.J., 2006: Die Anfälligkeit gegenüber der Streifenkrankheit (*Pyrenophora graminea*) im deutschen Sommergerstensortiment unter natürlichen Befallsbedingungen im ökologischen Landbau. Abschlussbericht zum gleichlautenden Forschungsprojekt, Aktenzeichen 514-43.10/03OE 022 gefördert vom BM für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Berlin.

NIELSEN, B.J., 2002: Screening for resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. Proceedings to the second International Workshop on barley Leaf Blights, 7-11 April 2002, ICARDA, Aleppo, Syria, 277-280.

PINNSCHMIDT, H., B. NIELSEN and H. HANSEN, 2005: Quantitative relationships in the infection cycle of seed borne net blotch. Proceedings of the 5th ISTA Seed Health Symposium 10-13 May 2005, Angers, France, 7.

WALTHER, H.-F., 1980: Biologische Grundlagen zur Wirkung Hg-freier, systemischer Fungizide gegen *Drechslera graminea*, dem Erreger der Streifenkrankheit der Gerste. Dissertation an der Technischen Universität München.

WEINHAPPEL, M., 2004: Ähnlich und doch sehr verschieden - Streifenkrankheit und Netzfleckenkrankheit der Gerste. Der Pflanzenarzt 3/2004, 57 Jahrgang, 8-10.

Enzymatische Löslichkeit von Glutenin als Indikator für die Anfälligkeit gegen Wanzenstich

Manfred Werteker^{1*} und Gabriela Kramreither¹

Abstract

Trials of winter wheat, harvested in 2003 were severely infested by naturally occurring bugs (*Eurygaster* sp.). Bug damage was determined in these trials by selecting and weighing the infested kernels. The determination of Glutenin degradation was done by the addition of meal from bug-infested kernels to meal from sound kernels from the same trials. So sample mixtures representing a degree of bug attack of 6 % were prepared. Mixtures and blanks made from sound meal were incubated for digestion of Glutenin. RP-HPLC-analysis was used for the measurement of the reduction in glutenin content due to the activity of bug proteinases and the results of damaged and sound samples were compared. Good correlations between the degree of bug attack and the digestibility of glutenin could be observed. The variety specificity of both parameters could be confirmed. The determination of digestibility of glutenins was repeated in material from a trial harvested in 2005 in another location in eastern Austria for confirmation of the results. A correlation with the degree of bug attack in trials from the harvest 2003 was found again.

Key words: Wheat bugs, degradation of glutenin, baking quality, HPLC

Einleitung

Durch Getreidewanzen (*Eurygaster* spp., *Aelia* spp.) wird in Jahren mit besonders heißer und trockener Witterung erheblicher Schaden an Vulgare- und Durumweizen verursacht. Die österreichischen Qualitätsweizengebiete sind infolge ihres semi-ariden Klimas bei ungünstigem Verlauf der Jahreswitterung erheblich durch diesen Schädling bedroht. Insbesondere durch die allgemein beobachtete Klimaerwärmung ist langfristig mit einer Zunahme der Schäden zu rechnen.

Wanzenstich wirkt sich durch erhebliche Beeinträchtigung der technologischen Qualität von Weizen aus. So wird etwa von einer Verringerung des Tausendkorngewichtes berichtet. Wesentlich ist jedoch vor allem die Beeinträchtigung der teigrheologischen Eigenschaften und die Entstehung von klebrigen Teigen (SARIC et al. 2004, BERGER et al. 1974). Schädigungen sind jedoch nicht nur bei Vulgareweizen zu beobachten. Auch die Kocheigenschaften der aus

befallenem Durumweizen hergestellten Teigwaren werden negativ beeinflusst (PETROVA 2002).

Die Qualitätsverluste werden durch proteolytische Enzyme verursacht, die durch den Wanzenspeichel während des Saugaktes in das bestochene Korn eingebracht werden, verursacht. Durch Wanzenproteasen wird ausschließlich Glutenin abgebaut, wobei sich die Substratspezifität der Speichelenzyme der Wanzen der nördlichen Hemisphäre (*Eurygaster* spp., *Aelia* spp.) sowohl auf HMW- als auch auf LMW-Glutenine erstreckt (SIVRI et al. 1998). Die Intensität des Abbaues wird aber auch durch genetische Faktoren der Sorte des befallenen Weizens beeinflusst (ROSELL et al. 2002, SIVRI et al. 2002).

Methoden

In der vorliegenden Studie wurden die Sorten Altos, Antonius, Astaro, Atrium, Capo, Edison, Eurofit, Josef, Komfort, Levendis, Ludwig, Lukas, Renan, Saturnus, SW-Kronos, SW-Maxi und Xenos sowie die Prüfstämme SE 310/01, SZD 271/90-3, SZD 2319 AB und SZD 4055 aus den Sortenversuchen in Albrechtsfeld und Staasdorf (Ernte 2003) herangezogen. Weitere Versuche wurden mit den Sorten Altos, Antonius, Astaro, Capo, Edison, Ludwig, Saturnus und SW-Maxi aus Großnondorf (Ernte 2005) durchgeführt.

Die Abbaubarkeit des Glutenins wurde durch Zugabe von 6 % Schrot aus wanzenstichigen Körnern der Sorte Saturn (Albrechtsfeld, Ernte 2003) zu Schrot aus wanzenstichfreien Körnern der zu untersuchenden Sorte untersucht. Der Gluteninabbau erfolgte durch Bebrütung bei 35°C auf einem Schüttler während 45 Minuten. Zur Bestimmung des Gluteninabbaues gelangte eine Osborne-Trennung mit anschließender HPLC-Analyse zum Einsatz (WIESER et al. 1998). Die Berechnung des Gluteninabbaues erfolgte durch Bildung der Differenz aus den Gluteningehalten der künstlich kontaminierten Proben und der gesunden Proben. Die Bestimmung des Wanzenstichbefalles wurde nach der EU-Norm (EC) No. 824/2000 durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Zwischen natürlichem Wanzenstichbefall und Gluteninabbau unter standardisierten Bedingungen konnten gute Korrelationen gefunden werden (Albrechtsfeld: $R^2=0.69$, $P<0.01$; Staasdorf: $R^2=0.36$, $P<0.01$). Die Abbaueversuche wurden an Proben der Ernte 2005 (Großnondorf) wiederholt.

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Sortenwesen, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

* Ansprechpartner: Dr. Manfred WERTEKER: manfred.werteker@ages.at

Die Ergebnisse korrelierten ebenfalls mit dem Wanzenstichbefall aus Albrechtsfeld der Ernte 2003 ($R^2=0.61$, $P<0.01$). Der Gluteninabbau lag bei allen Versuchen im Bereich zwischen 5 und 25mg/g Schrot.

Aus den Ergebnissen resultiert, dass eine genetisch bedingte leichtere Abbaubarkeit des Glutenins in doppeltem Sinne negativen Einfluss auf die Qualität des Getreides nimmt. Einerseits ist die Beeinträchtigung der technologischen Qualität bei Sorten mit leichter abbaubarem Glutenin eine stärkere. Andererseits wird aber auch der Wanzenstichbefall des Getreides erhöht, wodurch sich eine weitere Schädigung der Qualität ergibt.

Die Tatsache, dass der Gluteninabbau bei allen 3 untersuchten Versuchen etwa im gleichen Bereich liegt, lässt den Schluss zu, dass Umwelteinflüsse kaum eine Rolle für die Anfälligkeit des Glutenins gegen enzymatischen Abbau spielen. Hingegen wurde durch die Wiederholbarkeit des Zusammenhanges zwischen künstlichem Gluteninabbau an Proben aus der Ernte 2005 von einer bisher in der Versuchsanordnung nicht berücksichtigten Versuchsstelle mit den Ergebnissen der Wanzenstichbestimmung aus der Ernte 2003 die Heritabilität des Gluteninabbauverhaltens deutlich bestätigt.

Die Durchführung des Gluteninabbaues mit Wanzenproteinasen unter standardisierten Bedingungen bietet durch den Zusammenhang dieses Parameters mit dem Wanzenstichbefall die Möglichkeit, die Anfälligkeit einer Sorte gegen Wanzenstich zu prüfen.

Anmerkung

Die Studie wurde in ausführlicher Form veröffentlicht in: WERTEKER, M. und G. KRAMREITHER, 2008: Relation

between susceptibility to wheat bug attack and digestibility of glutenin. *Journal of Cereal Science* 47. 226-232

Literatur

- BERGER, M., P. GRANDVOINNET, J.F. De la GUÉRIVIÈRE, G. BRUSSIÈRE, 1974: Tests de rhéologie pratique utilisables pour l'appréciation des activités protéolytiques. *Annales Technol. Agriculures* 23, 233-239.
- COMMISSION REGULATION (EC) No. 824/2000 of 19 April 2000 establishing procedures for the taking-over of cereals by intervention agencies and laying down methods of analysis for determining the quality of cereals.
- PETROVA, I., 2002: Effect of bug damage on cooking potential of Bulgarian durum wheat cultivars depending on their gluten strength. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 8, 245-250.
- ROSELL, C.M., S. AJA, S. BEAN and G. LOOKHART, 2002a: Effect of *Aelia* spp. and *Eurygaster* spp. Damage on Wheat Proteins. *Cereal Chemistry* 79, 801-805.
- SARIC, M., -. PSODOROV, D. ZIVANEV and M. KOSUTIC, 2004: Deviation of processing quality of wheat caused by wheat bug (*Eurygaster*) infestation. Flour-Bread-03: 4th Croatian Congress of Cereal Technologists, Opatia, Croatia 48-56.
- SIVRI, D., H. KOKSEL and W. BUSHUK, 1998: Effect of wheat bug (*Eurygaster maura*) proteolytic enzymes on electrophoretic properties of gluten proteins. *New Zealand Journal of Crop and Horticultural Science* 26. 117-125.
- SIVRI, D., H.D. SAPIRSTEIN, W. BUSHUK and H. KÖKSEL, 2002: Wheat intercultivar differences in susceptibility of glutenin protein to effects of bug (*Eurygaster integriceps*) Protease. *Cereal Chemistry* 79, 41-44.
- WIESER, H., S. ANTES and W. SEILMEIER, 1998: Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance liquid chromatography. *Cereal Chemistry* 75, 644-650.

Virusfreimachung von alten Kartoffelsorten mittels Gewebekulturtechniken unter Einsatz von Ribavirin

M. Granilshikova, E. Kopper^{1*}, M. Schwab und R. Zederbauer

Zusammenfassung

Als arbeits- und kostensparende Alternative zur traditionellen Virusfreimachung durch Meristemkultur wurde der Einsatz von Ribavirin, einem synthetischen Replikationshemmer erfolgreich an einigen Kartoffelherkünften aus der Genbank AGES-LINZ erprobt.

Vorkultur

1. Kartoffelhälften in eine Magenta-Box auf steriles Seramis-Substrat legen und mit etwas Seramis bedecken.
2. Die Knollenhälften mit filtersterilem MS0+GA3 2 mg/L beschichten und
3. bei 28°C im Dunkeln inkubieren



Kultivierung

Knollenhälften bei Pilzbefall sofort mit einem dafür zugelassenen Fungizid behandeln und wöchentlich mit sterilem MS0+GA3, 2 mg/L beschichten.



Virusbefreiung

Triebspitzen von pathogenbefreiten Pflanzen schneiden und in Eproutetten mit MS-Medium+IBA 0,1 mg/L+GA3 0,3 mg/L+Ribavirin 50 mg/L+2% Saccharose+0,8 % Agar/L 3-4 Wochen bei 24°C, 12 Stunden Licht, kultivieren. ELISA-Test auf Virusbefall durchführen. Falls die Pflanzen nicht virusfrei sind, sind wie unter Punkt 1 beschrieben, erneut Triebspitzen zuschneiden.



Sterilisation

1. Die ganze Knolle mit Seife waschen und unter fließendem Wasser 20 Minuten spülen.
2. In 70% ETOH+25 mg/L Saponin 20 Minuten rühren.
3. In 20% Danchlor 20 Minuten rühren.
4. In 2% HgCl₂ 20 Minuten rühren, halbieren und
5. 3x mit sterilem Wasser spülen und trocknen lassen.

Akklimatisierung

2-3 cm lange, bewurzelte Pflanzen pikieren, 3-4 Wochen akklimatisieren, umtopfen und in einer vektorfreien Quarantänekabine bis zur Knollenreife kultivieren.

Literatur

- CONRAD, P.L., 1991: Potato virus S-free plants obtained using antiviral compounds and nodal segment culture of potato. American Journal of Potato Research Vol. 68, 507-513.
- DHITAL, S.P., B.M. SAKHA and H.T. LIM, 2006: Utilization of Shoot Cuttings for Elimination of PLRV and PVY by Thermotherapy and Chemotherapy from Potato (*Solanum tuberosum* L.). Nepal Journal of Science and Technology, Vol 7.

¹ AGES, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

* Ansprechpartner: Dr. Elisabeth KOPPER, elisabeth.kopper@ages.at

Survey of winter barley fields for leaf spot diseases: epidemic spread of *Ramularia* leaf spot in Hungary in 2008

Klára Manninger^{1*}, T. Mátrai² and I. Muranyi³

Summary

Winter barley fields were surveyed for leaf spot diseases in Hungary in the vegetation periods 2005 to 2008. Based on microscopic examination, *Pyrenophora* species were the dominant pathogens on winter barley in 2006. There were no necrotic spots on the upper leaf of winter barley in experimental plots until flowering, in the middle of May 2007. However, little spotty marks appeared on the upper leaves in Rőjtökmuzsaj (West-Hungary) after the florescence of winter barley. The microscopic test of infected leaves proved the leaf spots were caused by *Ramularia collo-cygni* (SUTTON et WALLER). *Ramularia* leaf spot disease was recorded for the first time on winter barley in Hungary. Spread of *Ramularia collo cygni* was confirmed in different geographical areas of Hungary in 2008. Occurrence of the pathogen was sporadic in East-Hungary, while a heavy attack on winter and spring barley was seen in West-Hungary. An epidemic spread of *Ramularia* leaf spot disease was noticed on irrigated field in Székkutas (South-Hungary).

The examined Hungarian winter barley varieties in Székkutas showed a wide range of *Ramularia* leaf spot disease reaction, from nearly resistant to very susceptible. Some genotypes used for breeding were with high resistance.

Keywords: winter barley, *Pyrenophora* species, *Ramularia collo-cygni*, *Ramularia* leaf spot, epidemic

Introduction

Barley is an intensively cultivated cereal grown worldwide. Fungal pathogens causing leaf spot on barley such as *Pyrenophora* species, *Rhynchosporium secalis*, and *Bipolaris sorokiniana* are important pathogens wherever barley is grown. Since the early 1990's another emerging leaf spot pathogen *Ramularia collo-cygni* has spread on barley, too. *Ramularia* leaf spot has become one of the most important diseases of barley in Central and Northern Europe. Still now *Ramularia* leaf spot disease was not known in Hungary. Objectives of our research were:

- 1) Survey of barley fields for leaf spot diseases in Hungary during 2005-2008.
- 2) Recording of the occurrence and distribution of *Ramularia* leaf spot disease in Hungarian barley growing areas.

3) Determination of the level of resistance to *Ramularia* leaf spot in cultivated Hungarian barley varieties and in genotypes used for breeding.

Materials and Methods

Leaf samples with necrotic spot symptoms were collected from various barley varieties during 2005-2008 at six locations in Hungary (Debrecen, Kompolt, Mosonmagyaróvár, Rőjtökmuzsaj, Székkutas, and Szombathely/Táplánszentkereszt). Infected leaves were placed in Petri dishes and kept at natural room lighting at 18-20 °C for two days. Leaf spots were scrutinised with stereo and light microscope. Determination of disease severity was based on examination of samples collected after flowering. Barley varieties were grouped on the basis of disease severity (leaf area covered with necrotic spots): weak (1-10 %), medium (10%-30 %) and severe (30 % or more).

Results and Discussion

A progressive increase in the occurrence and spread of leaf spot pathogens was detected in Hungary in 2006. *Pyrenophora* species were the predominant pathogens on winter barley. However, a new infection episode was defined in 2007. It was expected that *Pyrenophora* species can cause again severe leaf spot diseases, but the drought limited the spread of these pathogens in April. In this year, we detected little necrotic spots on the upper leaves after the flowering of winter barley. The microscopic examination of the spotted leaves suggested that these leaf spots were caused by *Ramularia collo-cygni*. The shape and size of conidiophores and conidia demonstrated the presence of this pathogen.

This new disease, *Ramularia* leaf spot was recorded for the first time on winter barley in Hungary in 2007. Spread of *Ramularia collo cygni* was confirmed in different geographical areas of Hungary in 2008. Occurrence of the pathogen was sporadic in Kompolt and Debrecen (East-Hungary), while a heavy attack on winter and spring barley was in Rőjtökmuzsaj and Szombathely (West-Hungary). An epidemic spread of *Ramularia* leaf spot disease was noticed on irrigated research field in Székkutas (South-Hungary).

The resistance of Hungarian varieties and genotypes used for breeding to *Ramularia* leaf spot was characterised. All examined Hungarian winter barley varieties were susceptible. Severity of disease on winter barley varieties showed

¹ Plant Protection Institute, Hungarian Academy of Sciences, Budapest

² Agromag Ltd, Szeged

³ Károly Róbert University, Fleischmann Rudolf Research Institute, Kompolt

* Contact person: Klára Manninger: sman@nki.hu

a wide range: from nearly resistant to very susceptible. A number of winter genotypes were resistant.

Conclusions

Our survey results justify the necessity of a strategy to control the new dangerous disease, *Ramularia* leaf spot of barley, which widespread in Hungary. A close collaboration of scientists from neighbouring countries is especially required.

References

ANONYMUS, 2006: Book of abstracts of the First European *Ramularia* Workshop, 12-14 March 2006, Georg August University Göttingen, Germany pp. 1-49

MANNINGER, S., L. VAJNA és I. MURÁNYI I, 2007: Új betegség, a *Ramuláriás* levélfoltosodás hazai előfordulása őszi árpán. Korokozó. *Ramularia collo-cygni* Sutton B és Walter JM Növényvédelem 43 (9) 421-423

MANNINGER, K., L. VAJNA and I. MURÁNYI, 2007: Occurrence of *Ramularia* leaf spot on winter barley in Hungary. Bericht über die 58. Tagung 2007 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkäufer Österreichs, LFZ Raumberg-Gumpenstein, 20-22. November 2007. Abstract, p. 115.

SUTTON, B.C., 1991: *Ramularia collo-cygni* C.M.I. Desr. Pathog. Fungi Bact. 1039:1-2

Acknowledgement

The authors are grateful for the financial support, the investigation was supported by GAK 2005 of NKTH grant (No.rezarpak, OMFB 0936/2005).

Wirkung langjähriger Erhaltungszüchtung auf Anbaueigenschaften, Ertrag und Qualität der Roggensorte EHO-Kurz

Michael Oberforster^{1*}, Konrad Schulmeister² und Wolfgang Kainz³

Einleitung

Die Züchtung der Winterroggensorte (*Secale cereale* L.) Edelhofer Neu wurde im Jahr 1949 begonnen. Er entstammt der Kreuzung von Edelhofer, eines früher im Waldviertel vielfach angebauten Roggens, mit Petkuser Kurzstroh. Am 14. Oktober 1965 erfolgte die Aufnahme in das österreichische „Zuchtbuch für Kulturpflanzen“. Im Jahr 1970 wurde die Bezeichnung in EHO-Kurz abgeändert (BODEN 1970). Die Sorte ist nach wie vor am Markt, ihre Hochblüte hatte sie in der Zeit von 1980 bis 2000. Bis dato umfassen die inländischen Saatgutvermehrungen von EHO-Kurz 23.706 Hektar (1966 bis 2008). Zeitweilig war die Hälfte der Roggenfläche Österreichs mit EHO-Kurz bestellt. Kleinere Produktionen gab es in auch in anderen europäischen Ländern. EHO-Kurz stand vorwiegend auf mittleren und geringeren Böden, in rauerer Lagen des Mühl- und Waldviertels war er allgemein verbreitet. Die Kombination aus mittelfrüher Reife, überdurchschnittlicher Ertragsstabilität und günstiger Kornausbildung wurde von vielen Landwirten geschätzt.

Material und Methoden

Wie sich die genetische Leistungsfähigkeit einer Sorte durch Maßnahmen der Erhaltungszucht ändert, wird üblicherweise nicht analysiert. Im vorliegenden Fall konnten wir den methodischen Problemen durch einen Rückgriff auf

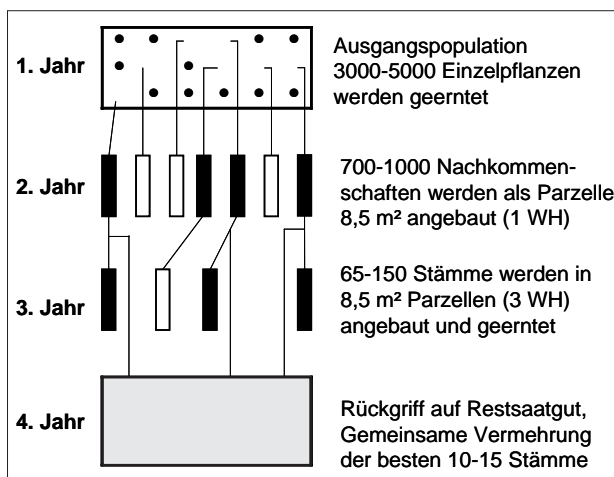


Abbildung 1: Schema der Sortenerhaltung (Restsaatgutmethode) bei der Winterroggensorte EHO-Kurz

tiefgekühltes Saatgut entgehen. Eine zu Beginn der 1970er Jahre in die Genbank der ehemaligen Landwirtschaftlich-chemischen Bundesversuchsanstalt Linz eingelagerte Akzession von EHO-Kurz (BVAL 113002) wurde nach einmaliger Zwischenvermehrung mit dem Aufwuchs aus zertifiziertem Saatgut der Ernten 1999 und 2000 verglichen. Die insgesamt 19 Ertragsversuche und 2 Schneeschimmelregister (*Microdochium nivale*) waren in die offizielle Sortenwertprüfung 1999/2000 und 2000/01 integriert. Die Datenerhebung erfolgte gemäß den Methoden für Saatgut und Sorten (BUNDESAMT 2002). Es handelte sich um Blockanlagen und Zweisatzgitter mit vierfacher Wiederholung der Objekte. Bei den Ertragsprüfungen variierte die Saatstärke im Bereich von 280 bis 350 keimf. Körnern/m² und die Parzellengröße von 10,0 bis 13,8 m². Für die statistische Analyse stand das Programmpaket SPSS Vers. 16.0 zur Verfügung (JANSSEN und LAATZ 2007).

Ergebnisse und Diskussion

Für fremdbefruchtende Arten sind mechanische Vermischungen, Mutationen, die natürliche Einkreuzung von sortenfremden Beständen oder Pflanzen und die genotypische Variation innerhalb einer Sorte von Bedeutung (SCHNELL 1977). Ziel der Erhaltungszucht war es, die Leistungsfähigkeit der Sortenpopulation unter Berücksichtigung der Homogenität und Beständigkeit zu steigern. Die im Jahr 1921 von LAUBE (1925) eingeführte Restsaatgutmethode ermöglicht eine begrenzte Befruchtungslenkung. Dabei werden positiv bewertete Nachkommenschaften im Folgejahr mit überlagertem Saatgut nochmals angebaut. Die von diesen Nachkommen produzierte Pollenwolke enthält in höherer Häufigkeit gute Erbanlagen (MIEDANER 1997).

Durchführung der Erhaltungszüchtung

Die Maßnahmen der züchterischen Erhaltung von EHO-Kurz haben im Lauf der Zeit gewisse Anpassungen erfahren (vgl. BODEN 1970, SCHULMEISTER 1990, GRAF 2001).

Zuletzt wurden von 3.000 bis 5.000 nach ihrem äußeren Erscheinungsbild selektierten Pflanzen zwischen 700 und 1.000 Nachkommenschaften ausgesät. Eine Einengung auf 100 bis 150 Stämme fand statt. Diese wurden wiederum hinsichtlich ihrer Leistung beurteilt. Bei den besten 10 bis

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Sortenwesen, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

² Landwirtschaftliche Fachschule Edelhof Saatucht, Edelhof 1, A-3910 ZWETTL

³ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Kartoffel und pflanzengenetische Ressourcen, Wieningerstr. 8, A-4020 LINZ

* Ansprechpartner: Dipl.-Ing. Michael OBERFORSTER, michael.oberforster@ages.at

Tabelle 1: Vergleich von Anbau- und Resistenzeigenschaften, von Kornertrag, Ertragskomponenten sowie Qualitätsmerkmalen der Roggensorte EHO-Kurz (zertifiziertes Saatgut) mit einem EHO-Kurz aus der Genbank

Merkmal	Anzahl	EHO-Kurz Genbank	EHO-Kurz Z-Saatgut	Differenz	Signifikanz
Anbaueigenschaften					
Ährenschieben (BBCH 59)	18	07.Mai	07.Mai	±0	n.s.
Gelbreife (BBCH 87)	16	11.Juli	11.Juli	±0	n.s.
Wuchshöhe, cm	19	156	150	-6	n.s.
Lagerung, 1-9	34	5,6	4,0	-1,6	sign.
Halmknicken, 1-9	7	3,9	3,1	-0,8	n.s.
Resistenzeigenschaften					
Mehltau, 1-9	12	3,7	4,1	+0,4	n.s.
Braunrost, 1-9	34	5,4	5,8	+0,4	n.s.
Schwarzrost, 1-9	5	3,4	2,8	-0,6	n.s.
Rhynchosporium, 1-9	4	4,7	4,8	+0,1	n.s.
Schneeschnitzel, 1-9	10	3,0	2,5	-0,5	n.s.
Auswuchs (Erntegut), Gew.-%	3	6,9	7,0	+0,1	n.s.
Auswuchs 1 (Labor), 1-9	19	4,6	5,4	+0,8	n.s.
Auswuchs 2 (Labor), 1-9	19	7,7	8,4	+0,7	n.s.
Kornertrag, Ertragskomponenten					
Kornertrag (86% TS), dt/ha	19	60,0	62,7	+2,7	n.s.
Kornfeuchte bei Ernte, %	19	14,6	14,4	-0,2	n.s.
Bestandesdichte, Ähren/m ²	19	444	408	-36	n.s.
Kornzahl pro Ähre	19	46,7	49,3	+2,6	n.s.
Einzelährengewicht (86% TS), g	19	1,37	1,56	+0,2	n.s.
Geerntete Kornzahl pro m ²	19	20.530	19.877	-653	n.s.
Tausendkorngewicht (86% TS), g	19	29,1	31,6	+2,5	n.s.
Qualität					
Hektolitergewicht, kg	19	73,0	72,7	-0,3	n.s.
Fallzahl, s	19	123	113	-10	n.s.
Amyl.-Viskositätsmaximum, AE	18	469	468	-1	n.s.
Amyl.-Verkleisterungstemperatur, °C	17	65,1	65,1	±0,0	n.s.

BBCH: Entwicklungsstadien bei Getreide

Boniturnote 1-9: 1 = kein, ... 5 = mittleres, ... 9 = sehr starkes Auftreten

Signifikanz: T-Test (α -Fehler = 0,05)

15 Stämmen wird auf das Restsaatgut zurückgegriffen (Abbildung 1). Dieser Zyklus wiederholte sich in zeitlichen Abständen.

Ergebnisse

Die aufwändigen Maßnahmen der Sortenerhaltung hatten einen um 6 cm kürzeren Wuchs, ein signifikant geringeres Lager (-1,6 Boniturnoten), ein geringeres Halmknicken (-0,8 Noten) und eine tendenziell höhere Toleranz (-0,5 Noten) gegenüber Schneeschimmel (*Microdochium nivale*) zur Folge. In der Beschreibenden Sortenliste würde die Genbankherkunft von EHO-Kurz im Merkmal Lagerung um zwei Ausprägungsstufen schlechter bewertet. Zur verbesserten Standfestigkeit dürfte neben der reduzierten Halmlänge insbesondere die geänderte Ertragsstruktur beigetragen haben. Die Bestandesdichte war durchschnittlich um 8 % (36 Ähren/m²) geringer. Im Gegenzug stiegen die Kornzahl pro Ähre um 6 % (2,6 Körner) und das Tausendkorngewicht um 9 % (2,5 g) an. Allerdings lassen sich diese Unterschiede bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 % statistisch nicht absichern. Von Mehltau (*Blumeria graminis*) und Braunrost (*Puccinia recondita*) waren die aus zertifiziertem Saatgut erwachsenen Bestände etwas mehr infiziert (+0,4 Noten). Der Kornertrag nahm vergleichsweise wenig und nicht signifikant um +2,7 dt/ha zu (Tabelle 1). Auf eine Zeitspanne von 25 Jahren bezogen, sind das lediglich 0,18 % jährlich. Dagegen gibt PANSE (1970) eine mittlere Steigerung von 0,4 bis 0,5 % pro Jahr an. Auf zunehmende Bodenbonität, ausgedrückt als mittleres Ertragsniveau von

sieben Roggensorten, reagieren beide trotz unterschiedlicher Standfestigkeit identisch ($b = 0,94$ bzw. $0,95$, siehe Abbildung 2). In Hinblick auf die Auswuchsfestigkeit und Fallzahlstabilität brachte die Erhaltungszüchtung keine positiven Wirkungen.

Zusammenfassung

Es wurden Effekte der Erhaltungszüchtung bei der im Jahr 1965 in Österreich registrierten Roggensorte EHO-Kurz analysiert. Die Aufwüchse aus zertifiziertem Saatgut und einem zu Beginn der 1970er Jahre eingelagerten Genbank-

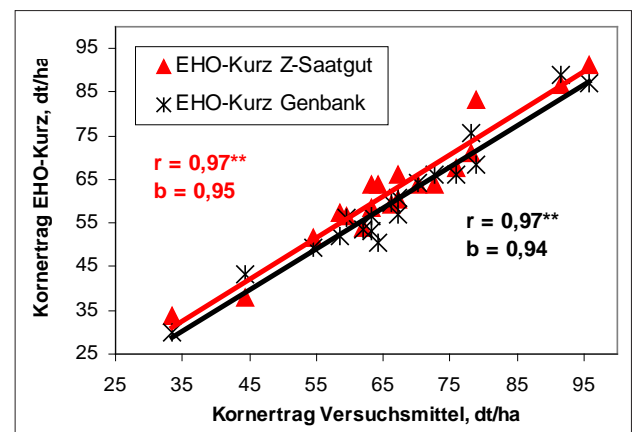


Abbildung 2: Ertragsreaktion der Roggensorte EHO-Kurz (zertifiziertes Saatgut) und EHO-Kurz aus der Genbank auf unterschiedliche Bodenbonität

muster standen im Vergleich. Zu diesem Zweck wurde in den Jahren 1999/2000 und 2000/01 eine mehrortige Prüfung (insgesamt 19 Versuche mit Ertragsauswertung, 2 Schneeschimmelregister) angelegt. Die Maßnahmen der Erhaltungszüchtung zeigten folgende Ergebnisse: kürzerer Wuchs (-6 cm), geringere Lagerung (-1,6 Noten), geringere Bestandesdichte (-36 Ähren/m²), höheres Tausendkorngewicht (+2,5 g), höhere Kornzahl pro Ähre (+2,6 Körner), gesteigerter Korntrag (+2,7 dt/ha). Zumeist waren die Unterschiede statistisch nicht signifikant. Für den landeskulturellen Wert war die Verbesserung der Standfestigkeit bedeutsam.

Summary

The effects of maintenance breeding on open-pollinated winter rye (*Secale cereale* L.) were analyzed in cultivar 'EHO-Kurz', which was registered in 1965 in Austria. The studied populations derived from (1) up-to-date certified seed and (2) from seed material which was stored in a genebank in the early 1970s. Several examinations on the development of plants were carried out in 19 field trials in the years 1999/2000 and 2000/2001. Tolerance against snow mould (*Microdochium nivale*) was evaluated in two additional field trials with small plots. Maintenance breeding led to the following results: shorter straw length (-6 cm), lower lodging (-1.6 score), lower density (-36 ears per square meter), higher thousand kernel weight (+2.5 g), more kernels per ear (+2.6 kernels), higher yield (+0.27

tons per hectare). In almost all cases the differences were statistically not significant. However, for the value for cultivation and use (VCU) the improvement in lodging tolerance was important.

Literatur

- BODEN, J., 1970: Entstehung und Erfolge des Winterroggens „Edelhofer Neu“. Bericht Arbeitstag der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, Gumpenstein, 82-91.
- BUNDESAMT und Forschungszentrum für Landwirtschaft (Hrsg.), 2002: Methoden für Saatgut und Sorten. Richtlinien für die Sortenprüfung. Sorten- und Saatgutblatt, Schriftenreihe 59/2002 des BFL.
- GRAF, M., 2001: EHO-Kurz, eine Roggensorte im Wandel der Zeit. Diplomarbeit HBLA Pitzelstätten.
- JANSSEN, J. und W. LAATZ, 2007: Statistische Datenanalyse mit SPSS für Windows. Heidelberg: Springer. 6. Auflage.
- LAUBE, W., 1925: Einige Fragen über die praktische Roggenzüchtung. Beitrag zur Pflanzenzucht 8, 73-89.
- MIEDANER, T., 1997: Roggen: Vom Unkraut zur Volksnahrung. Frankfurt/Main, DLG-Verlag.
- PANSE, E., 1970: Qualitäts- und Züchtungsfragen bei Roggen. Getreide und Mehl 20, 4, 30-31.
- SCHNELL, F.W., 1977: Methodische Grundlagen und Probleme der Erhaltungszüchtung bei Fremdbefruchtern. Bericht Arbeitstagung der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, Gumpenstein, 113-122.
- SCHULMEISTER, K., 1990: EHO, der gesunde Roggen aus dem Waldviertel. Blick ins Land 9, 31.

Identifizierung von Resistenzgenen in Winterweizen (*Triticum aestivum*) gegenüber *Fusarium graminearum*

Markus Rhiel^{1*}, Manuela Diethelm², Carola Wagner¹, Günther Schweizer² und Wolfgang Friedt¹

Abstract

The aim of this project is the identification and mapping of genes involved in *Fusarium* head blight resistance in the winter wheat using the cross populations Dream x Lynx, G16-92 x Hussar and SVP x Capo.

Keywords

Fusarium head blight, winter wheat, Affymetrix GeneChip analysis, resistance, RT-PCR

Pilzpathogene der Gattung *Fusarium* haben weltweit erhebliche Auswirkungen auf den Ertrag und die Verarbeitungsqualität von Weizen. *Fusarium*-Befall der Weizenähren führt häufig zu Kontaminationen des Erntegutes mit Pilzgiften (Mykotoxinen). Die toxische Belastung von Weizenmehl und Brot birgt ein hohes Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier.

Ziel des hier vorgestellten Projektes ist die Identifizierung von Genen in verschiedenen Winterweizensorten, die an der Abwehrreaktion der jeweiligen Genotypen beteiligt sind. Hierfür werden die drei Kreuzungspopulationen Dream x Lynx, G16-92 x Hussar and SVP x Capo verwendet.

Die Eltern der drei Winterweizen-Populationen Dream (resistent), Lynx (anfällig), G16-92 (res.), Hussar (anf.), SVP (res.) und Capo (anf.) wurden einer Einzelährcheninokulation mit dem *Fusarium graminearum*-Stamm IFA65 (Tulln) unterzogen. Für die mikroskopischen Untersuchungen wurden drei bis acht Tage nach der Inokulation Ährenproben genommen. Das Pilzgewebe wurde mit dem Farbstoff WGA (*wheat germ agglutinin*) Komplex Alexa Fluor® 488 angefärbt. Ährenproben der Eltern Dream und Lynx wurden 32 und 72 Stunden nach der Inokulation einer Affymetrix GeneChip Analyse unterzogen.

Die differentielle Expression der interessantesten Gene wurde mittels Real-time RT-PCR verifiziert. Zur Analyse der Daten wurde die $2^{-\Delta\Delta C_T}$ Methode herangezogen. Dabei diente

Ubiquitin als endogene Kontrolle, die Mock-Varianten der jeweiligen Zeitpunkte wurden zur Kalibration verwendet.

Die Fluoreszenzmikroskopie der infizierten Ähren zeigte Unterschiede zwischen den resistenten und anfälligen Genotypen. Während die infizierten Ährchen der anfälligen Genotypen einen vergleichbar starken Befall aufweisen, ist die Rachis der resistenten Genotypen fünf bis sieben Tage nach der Infektion weniger stark befallen.

In der GeneChip Analyse wurden insgesamt 3175 Gene bzw. ESTs differentiell exprimiert. In Übereinstimmung mit einer parallel durchgeführten cDNA-AFLP Analyse (LfL Freising) fallen hierbei vier WIR1 (*wheat induced resistance*) Gene besonders auf, deren Expression bei dem resistenten Elter Dream 72 Stunden nach der Infektion hoch reguliert ist. Ein WIR1 Protein wurde zuerst in Weizen nach Infektion mit Echtem Mehltau (*Blumeria graminis*) beschrieben (BULL et al. 1992).

Die Hochregulierung der WIR1 Gene konnte durch quantitative RT-PCR bestätigt werden. Differentiell exprimierte Kandidatengene, wie WIR1, können in bestehende Kartierungspopulationen (HOLZAPFEL et al. 2008, SCHMOLKE et al. 2008) integriert werden, um eine mögliche Korrelation mit bereits kartierten QTL für *Fusarium*-Resistenz zu identifizieren und so den Einfluss der Kandidatengene auf die *Fusarium*-Resistenz aufzuklären.

Literatur

- BULL, J., F. MAUCH, C. HERTIG, G. REBMANN and R. DUDLER, 1992: Molecular Plant-Microbe interaction. 5: 516-519.
- HOLZAPFEL, S., H.-H. VOSS, T. MIEDANER, V. KORZUM, J. HÄBERLE, G. SCHWEIZER, V. MOHLER, G. ZIMMERMANN and L. HARTL, 2008: Theor Appl Genet. 117: 1119-1128.
- SCHMOLKE, M., G. ZIMMERMANN, G. SCHWEIZER, T. MIEDANER, V. KORZUM, E. EBMEYER and L. HARTL, 2008: Plant Breeding. 127: 459-464.

¹ Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, IFZ, Justus-Liebig-Universität Giessen, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 GIESSEN

² Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 2, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Markus RIEHL: markus.rhiel@agr.uni-giessen.de

Selektion auf Frosttoleranz von Winterackerbohnen: Methodenoptimierung

Franziska Schrader^{1*}, Regina Martsch¹ und Wolfgang Link¹

Einleitung

Die Phänotypisierung der Frosthärte von Winterackerbohnen erfolgt in Göttingen nach der von ARBAOUI et al. (2008) entwickelten Methode. Hierbei werden Winterackerbohnen mehrfach kontrolliertem Frost ausgesetzt und anschließend auf Farbe und Turgenzverlust bonitiert. Die Versuche enden mit frostnaher Bonitur der Pflanzen. Diese Methode soll durch Veränderung der Temperaturprofile, Einsatz von Topfisolierung und Untersuchung des Wiederaufwuchses der mehrfach gefrostenen Winterackerbohnen weiter optimiert werden. Der Wiederaufwuchs der Pflanzen soll erfasst werden, um aussagekräftigere Ergebnisse hinsichtlich der Frosttoleranz der Winterackerbohnen zu erhalten.

Material und Methoden

In einer Pflanzenwachskammer (Vötsch) wurden Frostexperimente durchgeführt, um die Frosttoleranz von 36 Winterackerbohnenentypen (Göttinger Material) zu evaluieren und dabei die Methode von Arbaoui zu optimieren. Die Versuchsanlage war eine 4x9 Gitteranlage mit drei Wiederholungen. Bei jedem der beiden Durchgänge wurden zwei Varianten (A, B) angelegt. Winterackerbohnen der Variante A waren in unisolierten Töpfen und wurden einmal einer Temperatur von -13°C ausgesetzt. In Variante B waren die Töpfe mit Styropor isoliert. Die Pflanzen wurden zwei aufeinander folgenden Nächten bei -13°C und -15.5°C gefroren (*Abbildung 1*). Alle Töpfe enthielten ein Sand-Komposterde-Gemisch (1:3) bei einer

Wasserhaltekapazität von 70%. Die Härtung der Pflanzen beider Varianten erfolgte ab dem Zweiblattstadium 11 Tage lang. Am Ende der Härtungsphase wurden die Pflanzen auf Wuchshöhe bonitiert und die Anzahl der Laubblätter bestimmt. Je acht Stunden nach Frostende erfolgte eine Bonitur der Frostmerkmale Turgenzverlust und Farbe der Blätter analog zur Methode von Arbaoui. Je fünf Tage nach dem letzten Frost wurden diese Bonituren erneut durchgeführt und die Pflanzen oberhalb der zweiten Blattachsel zur Frischmassebestimmung abgeschnitten. 28 Tage nach dem Schnitt erfolgte die Schlussernte mit Bestimmung des Wiederaufwuchses.

Ergebnisse

Versuchsvariante A zeigt, dass ohne Topfisolierung bei keinem der Winterackerbohnenentypen nach der ersten Froststufe von -13°C ein Wiederaufwuchs stattfindet. Hingegen gibt es mit Isolierung der Töpfe (Variante B) nach -13°C und -15.5°C Frost Differenzierung. Aus *Tabelle 1* ist ersichtlich, dass die bonitierten Merkmale der Pflanzenmorphologie mit dem Turgenzverlust ab der zweiten Froststufe korrelieren. Letzterer ist allerdings nur leicht negativ mit Wiederaufwuchs korreliert (*Tabelle 1*). Somit stellt der Turgenzverlust kein taugliches Merkmal für Frosttoleranz und Überleben von Winterackerbohnen nach Frostversuchen in der Frostkammer dar. Die Überlebensrate und der Wiederaufwuchs der Winterackerbohnen in Variante B sind signifikant mit $r = 0,62$ korreliert (*Tabelle 1*).

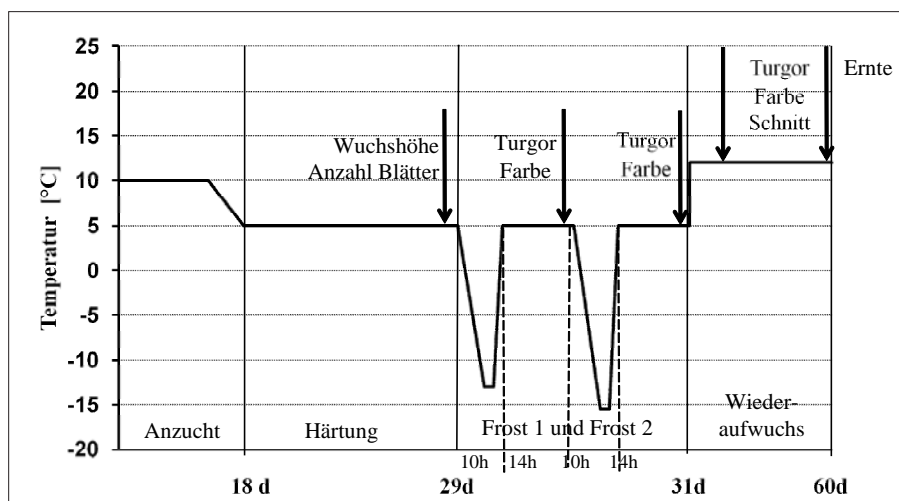


Abbildung 1: Temperaturverlauf und Bonituren, Schnitt und Ernte der Frostversuche mit Winterackerbohnen, Variante B.

¹ Universität Göttingen, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung Pflanzzüchtung und Pflanzenbau, Von-Siebold-Straße 8, D-37075 GÖTTINGEN

* Ansprechpartner: M.Sc.agr. Franziska SCHRADER, franziska.schrader@arg.uni-goettingen.de

Tabelle 1: Korrelationskoeffizient (Spearman) zwischen Morphologie, Turgeszenzverlust (T.), Wiederaufwuchs und Überlebensrate in Variante B.

	Wuchshöhe	Blattanzahl	Blattgröße ¹	-13°C	Turgeszenzverlust -15.5°C	Schnitt	Wiederaufwuchs
Blattanzahl	-0.20						
Blattgröße ¹	0.03	0.15					
T. -13°C	0.20	0.17	0.54**				
T. -15.5°C	0.32	0.36*	0.41*	0.60**			
T. Schnitt	0.49**	0.03	0.29	0.25	0.68**		
Wiederaufwuchs	-0.05	0.08	-0.10	-0.12	-0.23	-0.34*	
Überlebensrate	-0.32	-0.5	-0.01	-0.16	-0.36*	-0.56**	0.62**

*, ** Signifikanzniveau 0.05 und 0.01

¹ Bonitur der Blattgrößen wurde in einem weiteren Versuch im Folienhaus durchgeführt.

Ausblick

Die eng an die von M. ARBAOUI etablierte Methode angelehnte Variante A (ohne Topfisolierung) soll in folgenden Versuchen durch Variante B mit Topfisolierung ersetzt werden, um auch bei niedrigeren Frostgraden besser Differenzierung der überlebenden Winterackerbohnen genotypen zu erreichen. Desweiteren soll die Temperatur der zweiten Froststufe auf -17.5 °C erniedrigt werden. Hierdurch wird

eine bessere Aussagekraft der Wiederaufwuchsergebnisse erwartet und eine bessere Selektion der frosttolerantesten Winterackerbohnen genotypen möglich.

Literatur

ARBAOUI, M., C. BALKO and W. LINK, 2008: Study of faba bean (*Vicia faba* L.) winter-hardiness and development of screening methods. Field Crops Research, Vol. 106, 60-67.

Barley Yellow Dwarf Virus detection and assessment of virus spread in susceptible and resistant barley plants

Viola Spamer^{1*}, Christian Obermeier¹ and Wolfgang Friedt¹

Abstract

Virus titers in different plant parts from controlled transmission studies between susceptible and resistant plants are compared to understand the mechanisms underlying the reduction of virus replication/spread in resistant plants and characterize and potentially differentiate between distinct mechanisms of BYDV resistance or tolerance.

Keywords: Barley yellow dwarf virus, aphids, barley, PCR, titer

The aphid transmitted *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) causes stunting, reduced root growth and yellowing or reddening of leaves of barley plants and affects to a number of yield parameters. It is one of the major diseases of barley resulting in substantial yield losses worldwide.

This is aggravated by complex detection methods in aphids and insufficient knowledge about tolerance or resistance to the virus and/or aphids in barley. Up to now only three virus-resistance genes were described. Additionally quantitative trait loci (QTL) have been identified and mapped in two different DH-populations originating from the cultivar 'Post' [1].

For identifying resistance genes and/or QTL, which are responsible for an early and/or systemic response to virus infection, it is necessary to detect the replication and movement of the virus during the early infection phase in plants.

A simplified RNA extraction method and BYDV-specific PCR was established for subsequent BYDV detection in single aphids of the species *Ropalosiphum padi*. Barley plants were grown under controlled growth chamber conditions for 3 varieties, Post, Rubina and Vixen, representing different resistance sources. A total number of 270 plants for every variety were inoculated at one-leaf stage with 3 viruliferous aphids each and 3 whole plants were sampled and dissected into leaves, roots and stems every 12 hours up to day 9 after inoculation or every day up to 21 days after inoculation and stored at -20°C. Virus titers of infected leave tissue of different age gathered from three barley varieties with differential resistance will be analyzed by real time RT-PCR. The results will be compared among the varieties and different ages. Data of infected root tissue derived from the same plants will be included in the final analysis also.

Establishment of a sensitive real-time RT-PCR method for BYDV should allow to monitor replication and virus spread within different tissues, organs and developmental stages. This will enable us to compare virus titers in different plant parts in controlled transmission studies between susceptible and resistant plants to understand the mechanisms underlying the reduction of virus replication/spread in resistant plants and characterize and potentially differentiate between distinct mechanisms of BYDV resistance or tolerance.

References

- [1] SCHEURER, K., W. FRIEDT, W. HUTH, R. WAUGH and F. ORDON, 2001: Theor. Appl. Genet. 103:1047-1083.

¹ Department of Plant Breeding, IFZ Research Center for Biosystems, Land Use and Nutrition, Justus-Liebig-University, Heinrich-Buff-Ring 26-32, D-35392 GIESSEN

* Ansprechpartner: Viola SPAMER: viola.spamer@bio.uni-giessen.de

Correlation between maize genotypes and the stalk rot caused by maize *Fusarium*

Csaba Szöke^{1*}, János Pintér¹ and Csaba L. Marton¹

Introduction

The stalk strength of maize is of vital importance for the success of maize production. Stalk strength depends on two factors: the mechanical structure and the occurrence of stalk rot caused by various *Fusarium* and *Macrophomina* species. When attacked by these species the stalk tissues are destroyed by the cell-wall decomposing enzymes of the fungi (SZÉCSI 1975, LORENZO et al. 1997, SZÓKE et al. 2006). Substantial differences in resistance to fusarium stalk rot have been observed in various maize hybrids and inbred lines (JUGENHEIMER 1940, MESTERHÁZY 1981, KOVÁCS et al. 1988, LEDENCAN et al. 2003).

This paper discusses the major role of *Fusarium* species in the damage caused by stalk rot in maize.

Keywords: maize, stalk rot, *Fusarium graminearum*, resistance

Material and methods

Six SC hybrids and their twelve parental lines were inoculated with *Fusarium graminearum* isolate (FG36) in 2005 and 2006. This isolate was chosen after preliminary pathogeneity tests on ten different *F. graminearum* isolates. The collection and processing of the samples was begun on October 29th. One severely infected and one slightly

infected hybrid were chosen and stalk tissue extracts were prepared from naturally infected and artificially inoculated samples. These were used to measure the activity of the CMC-ase enzyme using a modified version of the method reported by Dingle.

Results

The results indicated that the genotype and the level of infection had the greatest effect on the investigated traits in the two experimental years. Stalk infection was more severe in 2005, probably due to the weather conditions during flowering and harvesting. The relative values of infection after artificial inoculation are illustrated in *Figure 1*, averaged over the six hybrids and twelve parental lines. Six of the lines exhibited above-average infection. Two of these (C, G) were used as the female parent in the hybrids, while the other four (B, D, H, L) were male components. Among the female components, lines A and K exhibited the least infection. Among the hybrids, two genotypes (MV2 and MV4) had an above-average level of infection.

Both of these hybrids involved female components that became severely infected. Although line L had a substantially higher value of infection than the average of the lines (being the most severely infected of the male lines), hybrid MV6 had the second smallest negative deviation from the hybrid mean. In hybrids MV1 and MV3, which exhibited

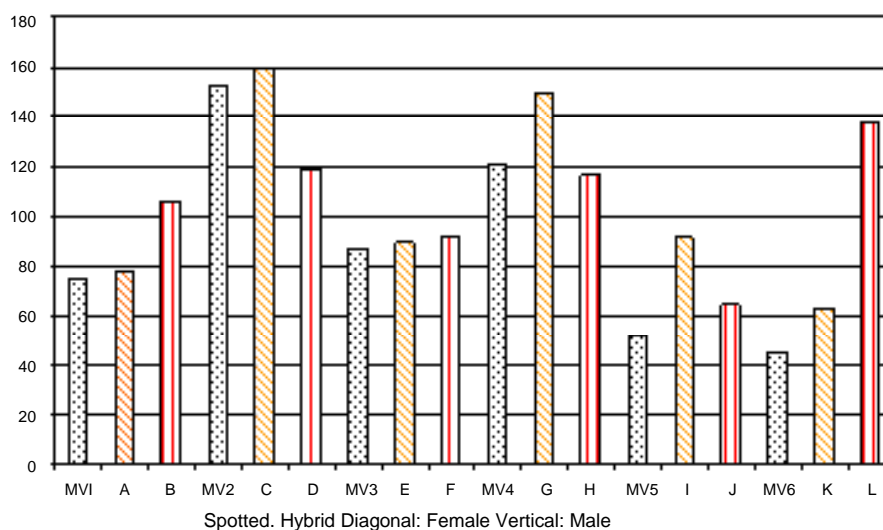


Figure 1: Level of *Fusarium* stalk infection relative to the experimental mean (100%) for the hybrids and their female and male parental lines

¹ Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, Brunszvik Street 2, H-2462 MARTONVÁSÁR

* Contact person: M.Sc. Csaba SZÓKE: szokecs@mail.mgki.hu

below-average infection, the female component suffered less severe infection than the male component. The lowest level of infection was recorded for hybrid MV5, which was the only hybrid where the female component was more heavily infected than the male. The relative values of artificial infection for the female and male parents and for the hybrids were used to calculate correlation coefficients between the female and male parents and the hybrids. The female parent-hybrid correlation coefficient was found to be $r = 0.88$, while the male parent-hybrid correlation coefficient was $r = 0.39$. Similar values were reported by Georgiev (1977) and MARTON (2002). These results suggest that the inheritance of resistance to *Fusarium* stalk rot is more closely correlated with the resistance of the female component.

The CMC-ase enzyme activity measurements gave the following results: in the case of the MV7 hybrid, which was least infected in the field, the enzyme activity of the tissue extract was lower than that of MV2, the hybrid that was damaged to the greatest extent by the *Fusarium graminearum* isolate in the field and which had significantly higher enzyme activity (Figure 2). This suggests that isolates with greater cellulase activity are more aggressive cell-wall decomposers, and that there is a correlation between the cellulase activity of the isolates and their aggressiveness. This will be clarified in further experiments.

References

- GEORGIEV, T., 1977: Relationship between stalk strength and grain yield of normal and endosperm mutant hybrids of maize. IX. Meeting of Eucarpia Maize and Sorghum Section. Krasnodar, USSR, August 7-13, 1977. Abstracts of Papers, 3, 73-74.
- JUGENHEIMER, R. W., 1940: Resistance to Diplodia infection in inbred lines and hybrids of maize. PhD Thesis, Iowa State College, 94 p.
- KOVÁCS, G., Á. MESTERHÁZY, A. KOROM, 1988: Kukoricahibridek cső-szárufuzáriummal szembeni ellenállósága és mechanikai szilárdsága. (Resistance of corn hybrids to fusarial stalk and ear rots and their mechanical stalk characteristics.) *Növénytermelés*, 37, 1-12.
- LORENZO, G. De, R. CARTORIA, D. BELLINCAMPI and F. CERVONE, 1997: The Mycota V. Part A. In: CARROL, G. C., TUD-
- ZYNSKI, P. (eds.), Plant Relationships. Springer-Verlag, Berlin and Heidelberg.
- MARTON, L.C., 2002: Kukoricahibridek termése, tenyészideje és szárszilárdsága. (Yield, vegetation period and stalk strength of maize hybrids.) DSc Thesis. MTA Mezőgazdasági Kutatóintézete, Martonvásár, pp. 19-20.
- MESTERHÁZY, Á., 1981: A kukorica kéregellenállásának és szárkorhadással szembeni rezisztenciájának kapcsolata. (Relationship of bark resistance and resistance to nigrospora cob rot in maize.) *Növénytermelés*, 30, 309-318.
- SZÉCSI, Á., 1975: Sejtfallbontó enzimek szerepe a kukorica *Fusarium* okozta szárkorhadásában. (Role of cell-wall degrading enzymes in fusarium stalk rot of corn.) *A Növényvédelmi Kutató Intézet Évkönyve*, 13, 227-241.
- SZŐKE, C., Z. HEGYI, J. PINTÉR, L.C. MARTON and Á. SZÉCSI, 2006: Correlation between stalk rot caused by maize *Fusarium* and the level of cellulase activity. XXth International Conference of the Eucarpia Maize and Sorghum Section, 20-24 June 2006, Budapest, Hungary.

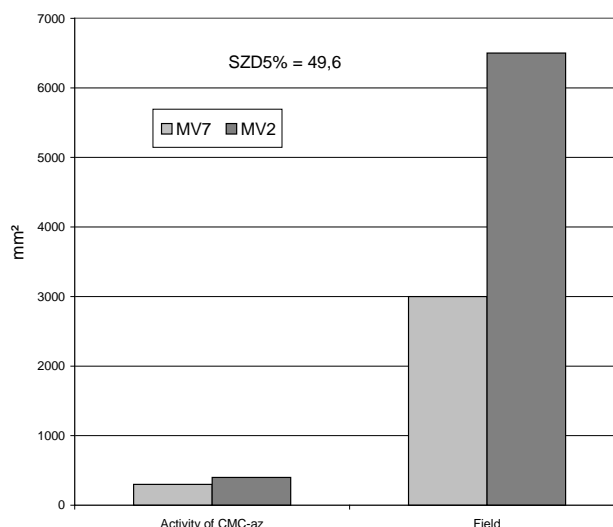


Figure 2: CMC-ase enzyme activity of the isolates and the area of the lesion developing in the stalk as the result of field infection (MARTONVÁSÁR 2006)

Sortenabhängige und zeitliche Entwicklung von Fruchtfäule bei Ölkürbis (*C. pepo* var. *styriaca*)

Johanna Winkler^{1*}, Bianca Freistetter² und Herbert Huss³

Zusammenfassung

Die Sorte „Gleisdorfer Diamant“ zeigt in der Phase der Fruchtreife ein deutlich verlangsamtes Fortschreiten der Fruchtfäulnis gegenüber der Sorte „Gleisdorfer Ölkürbis“. Dies ermöglicht ein längeres Zuwarten der Ernte bis zur optimalen Ausbildung der Kerne, wodurch auch eine hohe Ölqualität gewährleistet wird. Fruchtfäulnisschaden trat unabhängig vom Alter der Früchte auf. Die in der mehrwöchigen Blühperiode zuerst angesetzten Früchte wiesen bei beiden Sorten wenig Fruchtfäulnis auf. Bei der fäulnistoleranten Sorte „Gleisdorfer Diamant“ faulten die mittel- und spät angesetzten Früchte weniger stark als beim „Gleisdorfer Ölkürbis“.

Verursacht wurde die Fruchtfäule im Jahr 2008 von dem Pilz *Didymella bryoniae* und dem Bakterium *Erwinia carotovora*.

Schlagwörter: Oil pumpkin, tolerance to fruit rot, *Didymella bryoniae*, Gleisdorfer Ölkürbis, Gleisdorfer Diamant

Abstract

The oil pumpkin variety „Gleisdorfer Diamant“ shows during the period of fruit ripening a very reduced increase of fruit rot compared with the variety „Gleisdorfer Ölkürbis“. This enables to harvest when the seeds are fully filled without having reduced seed yields.

During the maturing period there was no relationship between fruit rot and the age of fruits. The early fruit set in the about 4 weeks lasting period of fruit set had been less affected by fruit rot at both varieties. The tolerant variety “Gleisdorfer Diamant” showed less fruit rot with respect to medium and late fruit set.

Fruit rot was mainly caused by the fungus *Didymella bryoniae*, accompanied by the bacterium *Erwinia carotovora*.

Keywords: Oil pumpkin, tolerance to fruit rot, *Didymella bryoniae*, Gleisdorfer Ölkürbis, Gleisdorfer Diamant

Hintergrund

Der Steirische Ölkürbis (*Cucurbita pepo* var. *styriaca*) mit seinen weichschaligen dunkelgrünen Samen gewinnt zunehmend kulinarisch und wirtschaftlich an Bedeutung. In den letzten Jahren ist allerdings auch ein verstärktes Krankheitsauftreten zu beobachten. Die größten Probleme verursacht dabei eine von dem Pilz *Didymella bryoniae* verursachte Fruchtfäule (HUSS et al. 2007). Im heurigen Jahr war auch eine Beteiligung des Bakteriums *Erwinia carotovora* an der Fäulnisbildung nachweisbar.

In den Jahren 2006 bis 2008 betrug der fäulnisbedingte Ertragsausfall bei der anfälligen Hauptsorte „Gleisdorfer Ölkürbis“ 15,5 % (GREIMEL, 2008a).

Tabelle 1: Prozentuelle Fruchtfäulnis in Praxisversuchen
 Quelle: GREIMEL, 2008a, Arbeitskreis Ackerbau, Landwirtschaftskammer Steiermark

Jahr	Sorte		Anzahl Versuche
	Gleisdorfer Ölk.	Gl. Diamant	
2006	16,0	10,0	7
2007	10,0	4,0	7
2008	20,5	14,4	6
Ø	15,5	9,5	

Die Ölkürbissorte „Gleisdorfer Diamant“ erwies sich hingegen als tolerant gegen Fruchtfäule (GREIMEL, 2008b). Auf diese Toleranz wurde nicht gezielt selektiert. Um zu eruieren, ob diese Toleranz auf ein bestimmtes Blüh- und Fruchtansatzverhalten zurückzuführen ist, wurden im Jahr 2008 umfassende Beobachtungen während der mehrwöchigen Blühperiode hinsichtlich des Fruchtansatzes und des zeitlichen Auftretens der Fruchtfäule bei diesen beiden Sorten durchgeführt.

Material und Methode

Inmitten des Praxisversuchsfeldes der Steirischen Landwirtschaftskammer am Standort St. Ruprecht/Raab im Jahr 2008 wurden je 3 Parzellen in der Größe von 16,8 m² (4,2 x 4 m) als Beobachtungseinheiten bei den Sorten Gleisdorfer Ölkürbis (GL) und Gleisdorfer Diamant (D) markiert. Ab Blühbeginn (23.6.) bis Ende der Hauptblüte (16.7.) wurden täglich alle weiblichen Blüten mit Schlaufenetiketten versehen, wobei das Blühdatum notiert wurde. Am 7. August erfolgte bereits die erste Auszählung der gefaulten Früchte, weitere 3 Auszählungstermine folgten (18. 8., 26.8. und 2.9.). Bei der letzten Auszählung war der Bestand bereits erntereif.

¹ Saatucht Gleisdorf, Am Tieberhof 33, A-8200 GLEISDORF

² LFZ Raumberg-Gumpenstein, Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft, Raumberg 38, A-8952 IRDNING

³ LFZ Raumberg-Gumpenstein, Institut für Biologische Landwirtschaft, Versuchsstation Lambach/Stadl-Paura, Gmundnerstr. 9, A-4651 STADL-PAURA

* Ansprechpartner: Dipl.-Ing. Johanna WINKLER: winkler.szgleisdorf@utanet.at

Ergebnisse

Bei beiden Sorten setzte nur ein Drittel der weiblichen Blüten Früchte an. Bereits 84 % der Früchte wurden im Zeitraum 23. 6. bis 13.7. angelegt.

Die Sorte „Gleisdorfer Diamant“ (D) bildete je Parzelle deutlich mehr Früchte aus als „Gleisdorfer Ölkürbis“ (GL), nämlich 37 versus 26. Davon verfaulten durchschnittlich je Parzelle bei D 6 und bei GL 7 Früchte. Dies ergibt 15,5 % Fruchtfäulnis bei D und aufgrund der deutlich geringeren Gesamtfruchtzahl 27,8 % Fruchtfäulnis bei GL.

Die untersuchten Sorten zeigten eine unterschiedliche zeitliche Entwicklung der Fruchtfäulnis. Bei der ersten Fruchtzählung am 7. August waren bei D 6 % und bei GL 5 % der Früchte mit starken Fäulnissymptomen zu beobachten. Bis 18. August war bei D die weitere Fäulnisentwicklung allerdings deutlich geringer als bei GL (plus 1,8 % bzw. plus 5,0 %). Die Fäulniszunahme driftete bei den 2 weiteren Beobachtungsterminen (26. August und 2. September) zuungunsten der Sorte GL noch stärker auseinander (weitere plus 7,2 % bzw. 17,7 % Fruchtfäulnis).

Bei Gleisdorfer Ölkürbis begann die Fruchtfäulnis tendenziell bei den früh angelegten Früchten und betraf letztlich massiv die nach der Hauptblüte angelegten Früchte. Bei Gleisdorfer Diamant mit der deutlich geringeren Anzahl gefaulter Früchte war der Fäulniseintritt in keinem Zusammenhang mit dem Alter der Früchte.

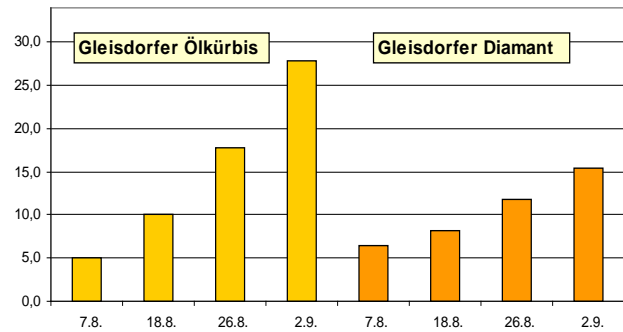


Abbildung 1: Zeitliche Zunahme der prozentuellen Fruchtfäulnis in Relation zur Gesamtfruchtzahl

Literatur

- GREIMEL, C., 2008a: Persönliche Mitteilung.
- GREIMEL, C., 2008b: Ölkürbis: Populationssorten oder Hybridsorten? Der Fortschrittliche Landwirt, 6, 30-31.
- HUSS, H., J. WINKLER und C. GREIMEL, 2007: Der Pilz *Didymella bryoniae* schädigt steirischen Ölkürbisanbau: Fruchtfäule statt Kernöl, Der Pflanzenarzt 60 (6-7), 14-16.

Dank

Diese Arbeit wurde im Rahmen des durch die FFG geförderten Projektes Nr. 812110 „Genetisch bedingte Fruchtfäule bei Ölkürbis“ durchgeführt.