

Gegensatz zu Wintergerste wurden bei Weizen vollkommen sterile Ähren nur selten beobachtet.

Die Züchtung auf Toleranz gegenüber Spätfrost ist ein schwieriges Unterfangen. Bereits kleine Unterschiede in der Entwicklung der Genotypen können zu fehlerhaften Interpretationen der Ergebnisse führen (FREDERIKS et al. 2012). Sorten mit früher Halmstreckung und frühem Ährenschieben sind tendenziell mehr gefährdet als Sorten mit langsamer Entwicklung. In den Prüfungen festgestellte Differenzen in der Empfindlichkeit basieren oftmals auf Unterschieden im Wachstumsstadium. Für die Getreidezüchter Mitteleuropas ist die Toleranz gegenüber Spätfrost derzeit kein Selektionskriterium. Jedoch könnten Spätfrost aufgrund des Klimawandels, des im Frühjahr zeitiger einsetzenden Wachstums und einer Tendenz zur genetischen Verfrühung von Weizensorten für Trockengebiete künftig mehr Probleme bereiten.

Zwiewuchs

Bei Getreide ist die Anlage von Bestockungstrieben genetisch reguliert und wird von den Umweltbedingungen beeinflusst (DUGGAN et al. 2005). Mit dem Eintritt in das Schosstadium endet normalerweise die Bestockung und beginnt die Rückbildung überzähliger Triebe. Die



Abbildung 2: Spätfrostschaden (2 Ähren links) und durch Trockenstress verursachte Ährenspitzensterilität (2 Ähren rechts) bei Winterweizen

Figure 2: Spring freeze injury (2 spikes on the left) and drought stress-induced spike tip sterility (2 spikes on the right) on winter wheat

grundsätzliche Fähigkeit zur Anlage von Seitenachsen geht jedoch nicht verloren. Nach früher Lagerung, durch Spätfrost verursachter Taubährigkeit, Trockenperioden, Hagelschlag oder Virusinfektionen im Frühjahr ist bei ausreichendem Wasserangebot ein Austrieb von am Halmgrund befindlichen Knospen möglich. Das Ergebnis ist ein nicht erntefähiges Gemenge von bereits weitgehend reifen und grünen Ähren oder Rispen.

Im Jahr 2012 waren viele Getreidebestände stark zwiewüchsig. In Ostösterreich und im Alpenvorland betraf es zuerst die im Februar ausgedünnten Wintergersten. Bei den durch Spätfrost partiell sterilen Ähren war die unterdrückende Wirkung der Haupthalme auf die Knospen (Apikaldominanz) reduziert, was zur Bildung neuer Nebentriebe führte. Der Zusammenhang von durch Spätfrost verursachter Schartigkeit und Zwiewuchs wird anhand von Boniturdaten deutlich (Abbildung 3). Einen ähnlichen Effekt übte die fehlende Assimilatsenke bei Weizenpflanzen mit durch WDV-Frühjahrsinfektionen abgestorbenen Ähren aus. Regenfälle im Juni führten insbesondere im östlichen Waldviertel sowie im Weinviertel verbreitet zu Zwiewuchs. Betroffen waren vor allem dünne und kurzhalmige Bestände von Winterweizen, Winterdurum, Dinkel, Sommergerste und Sommerdurum. Ähren von zwiewüchsigen Halmen liefern zumeist mangelhaft ausgebildete Körner. Wird mit der Ernte ein bis zwei Wochen zugewartet, kann dies beim bereits totreifen Erstbestand Ährenverluste oder Kornausfall verursachen. Wechselhafte Witterung in dieser Zeit schädigt zusätzlich durch Auswuchs und abgesenkte Fallzahlen.

In Vergleichsprüfungen zeigten die Sortimente eine differenzierte Neigung zu Zwiewuchs. Allerdings ist das Merkmal nicht unmittelbar züchterisch relevant. Vielmehr geht es darum, durch entsprechende Winterhärte, Trockenheitstoleranz und Standfestigkeit sowie durch richtig gesetzte pflanzenbauliche Maßnahmen Zwiewuchs zu vermeiden.

Zusammenfassung

In dieser Studie werden die Themen Auswinterung, Trockenheit, viröse Weizenverzweigung, Spätfrost und Zwiewuchs bei Wintergerste und Winterweizen behandelt. Die Ausführungen basieren auf Ergebnissen von Exaktversuchen und Beobachtungen aus der landwirtschaftlichen Praxis.

Die Gründe für das Auswintern können sehr verschieden sein. Werden die Schäden den wesentlichsten Ursachen (niedrige Temperaturen, Befall mit Schneeschimmel, Typhulafäule) möglichst präzise zugeordnet, sind die G×U-Wechselwirkungen deutlich vermindert. Im Jahr 2012 waren die in der ersten Februarhälfte einwirkenden Fröste von -15 bis -22°C ausschlaggebend. Der in Sortenwertprüfungen festgestellte Schädigungsgrad ließ sich über die Umwelten zumeist gut reproduzieren (Wintergerste: $r=0,64^{**}$ bis $0,90^{**}$; Winterweizen: $r=0,32$ n.s. bis $0,90^{**}$). Von Oktober 2011 bis Mai 2012 erhielten Teile der pannonischen Region nur 130 bis 180 mm Niederschlag. Im Weizensortiment wurden die Trockenstress-Symptome Blattrollen und Ährenspitzensterilität untersucht. Ergebnisse aus 2011 und 2012 zeigten eine Wiederholbarkeit von $r=0,47^*$ bis $0,72^{**}$ (Blattrollen) bzw. $r=0,70^{**}$ bis $0,88^{**}$ (Ährenspitzensterilität). Beide Parameter eignen sich jedoch nur sehr

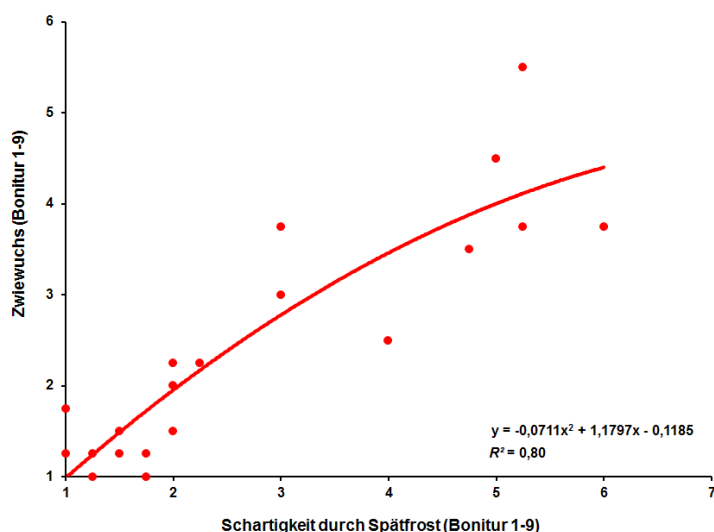


Abbildung 3: Intervarietaler Zusammenhang von durch Spätfrost verursachter Schartigkeit und Zwiewuchs (Bonitur 1-9) (Versuch Atzenbrugg 2012, 20 Sorten)

Figure 3: Intervarietal relationship of partial seed set caused by late spring frost and secondary tillering (scale of 1-9) (Trial at Atzenbrugg in 2012, 20 cultivars)

eingeschränkt zur Beurteilung der Trockentoleranz von Genotypen. Im Nordosten des Landes trat bei Winterweizen oftmals viröse Weizenverzweigung (WDV) auf. Die Pflanzen dürften in erster Linie im Frühjahr und in geringerem Maße im Herbst infiziert worden sein. Im nordöstlichen Flach- und Hügelland, im östlichen Alpenvorland und Waldviertel sank in der Nacht vom 17. auf den 18. Mai die Temperatur auf +3 bis -6°C ab. Der Spätfrost führte bei Getreide (insbesondere Wintergerste, Winterweizen und Roggen) mitunter zu partieller oder gänzlicher Taubährigkeit. Im Juni und Juli präsentierte sich das Getreide gebietsweise stark zwiewüchsig. Betroffen waren vor allem Bestände, welche unter Auswinterung, Trockenheit, Spätfrost oder viröser Weizenverzweigung gelitten hatten.

Literatur

- BFL, 2002: Methoden für Saatgut und Sorten. Richtlinien für die Sortenprüfung. Sorten- und Saatgutblatt, Schriftenreihe 59/2002. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.
- BLUM A, 1989: Breeding methods for drought resistance. In: JONES HG, FLOWERS TJ, JONES MB (Eds.), *Plants under stress*, 197-215. Cambridge Univ Press, Cambridge.
- BLUMA, 2011: *Plant breeding for water-limited environments*. Springer, New York.
- DUGGAN BL, RICHARDS RA, VAN HERWAARDEN AF, FETTEL NA, 2005: Agronomic evaluation of a tiller inhibition gene (*tin*) in wheat. I. Effect on yield, yield components, and grain protein. *Aust J Agric Res* 56, 169-178.
- FLAMM C, SCHERIAU S, ZECHNER E, LIVAJA M, PAUK J, 2013: Praktische Anwendbarkeit von Trockenstressparametern für die Weizenzüchtung. Bericht 63. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2012, 87-93. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irnding.
- FOWLER DB, 1979: Selection for winterhardness in wheat. II. Variation within field trials. *Crop Sci* 19, 773-775.
- FOWLER DB, GUSTA LV, 1979: Selection for winterhardness in wheat. I. Identification of genotypic variability. *Crop Sci* 19, 769-772.
- FREDERIKS TM, CHRISTOPHER JT, HARVEY GL, SUTHERLAND MW, BORRELLAK, 2012: Current and emerging screening methods to identify post-head-emergence frost adaptation in wheat and barley. *J Exp Bot* 63, 15, 5405-5416.
- HABEKUSS A, RIEDEL C, SCHLIEPHAKE E, ORDON F, 2009: Breeding for resistance to insect-transmitted viruses in barley - an emerging challenge due to global warming. *J Kulturpflanzen* 61, 53-61.
- JONES HG, 1979: Visual estimation of plant water status in cereals. *J Agric Sci* 92, 83-89.
- LEIPNER J, GIRAUD A, STAMP P, KELLER B, PLASSÉ C, 2010: Phänotypische und genetische Analyse der Frosttoleranz genetischer Ressourcen von Weizen unter Feldbedingungen. Bericht 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2009, 25-29. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irnding.
- MEHNER S, MANURUNG B, GRÜNTZIG M, HABEKUSS A, WITSACK W, FUCHS E, 2003: Investigations into the ecology of the *Wheat dwarf virus* (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *J Plant Dis Prot* 110, 313-323.
- NEURURER H, 1957: Spätfroste als Ursache partieller und totaler Weißährigkeit des Getreides. *Der Pflanzenarzt* 10, 92.
- OBERFORSTER M, FLAMM C, 2007: Reaktion eines Weizensortiments auf induzierten Trockenstress. *Vortr Pflanzzüchtg* 72, 199-202.
- ORDON F, 2008: Pflanzzüchterische Möglichkeiten der Anpassung von Nutzpflanzen an zukünftige Produktionsbedingungen. In: VON TIEDEMANN A, HEITEFUSS R, FELDMANN F (Eds.), *Pflanzenproduktion im Wandel - Wandel im Pflanzenschutz*, 90-102. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig.
- PALEG LG, ASPINALL D, 1981: *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants*. Academic Press Australia, Sydney.
- PAUK J, CSEUSZ L, LANTOS C, MIHÁLY R, SZÉNÁSI M, FEHÉRNÉ JE, LELLEY T, MAJER P, SASS L, HORVÁTH GV, VASS I, DUDITS D, 2010: Drought stress and the response of wheat: nursery and complex stress diagnostic experiments. Bericht 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2009, 15-18. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irnding.
- RADEMACHER B, 1950: Über das Bild der Spätfrostschäden an Ährengetreide und Mais. *Z Pflanzenkrkh Pflanzensch* 57, 401-408.
- RICHARDS RA, CONDON AG, REBETZKE GJ, 2001: Traits to improve yield in dry environments. In: REYNOLDS MP, ORTIZ-MONASTERIO JI, MCNAB A (Eds.), *Application of physiology in wheat breeding*, 88-100. CIMMYT, Mexico.
- STATISTIK AUSTRIA, 2012: *Feldfruchternte 2012. Endgültige Ergebnisse. Schnellbericht 1.12*. Bundesanstalt Statistik Österreich, Wien.
- VACKE J, 1961: *Wheat dwarf virus* disease. *Biol Plant* 3, 228-233.
- VACKE J, CIBULKA R, 2000: Response of selected winter wheat varieties to *Wheat dwarf virus* infection at an early growth stage. *Czech J Genet Plant Breed* 36, 1-4.
- VAN GINKEL M, CALHOUN DS, GEBEYEHU G, MIRANDAA, TIANYOU C, PARGAS LARA R, TRETOWAN RM, SAYRE K, CROSA J, RAJARAM S, 1998: Plant traits related to yield of wheat in early, late or continuous drought conditions. *Euphytica* 100, 109-121.
- WARRICK BE, MILLER TD, 1999: Freeze injury on wheat. Texas Agricultural Extension Service, The Texas A&M University System, SCS-1999-15.

Untersuchungen der Reaktionen verschiedener Gerstegenotypen auf zukünftige CO₂-Konzentrationen als Grundlage zur züchterischen Optimierung des „CO₂-Düngeeffektes“

Analyses of the responses of different barley genotypes to future CO₂ concentrations in order to optimise the CO₂ fertilisation effect through plant breeding

Esther Mitterbauer^{1*}, Frank Ordon², Antje Habekuß², Martin Erbs¹, Matthias Enders²,
Benjamin Kilian³, Hans-Joachim Weigel¹, Anette Giesemann⁴ und Jürgen Bender¹

Abstract

Atmospheric CO₂ concentration has risen all over the globe from pre-industrial times until today and is predicted to increase even more rapidly in future. Higher CO₂ concentration stimulates photosynthesis and can increase biomass and yield in C3 crops (CO₂ fertilization effect).

To get information about the genetic variability in winter barley (*Hordeum vulgare* L.) on CO₂ responses, 100 of about 630 genotypes analysed with the Illumina 9k iSelect chip were grown in open-top chambers at different CO₂ levels. Plants were phenotyped for growth parameters, yield (seed weight per plant) and yield components (seed number per ear, number of ears per plant, and the thousand-kernel weight) as well as for physiological (carbon isotope discrimination) and morphological (leaf structure) traits.

The genotypes differed significantly for thousand-kernel weight and number of ears per plant within the groups. The two-rowed genotypes varied in their seed number per ear, but this was not found in the six-rowed genotypes. Elevated CO₂ enhanced yield (+28%), number of seeds per ear (+12%), and number of ears per plant (+15%) in six-rowed genotypes. Elevated CO₂ increased the thousand-kernel weight (+4 %) and number of seeds per ear (+11%) in two-rowed genotypes, but not the yield and the number of ears per plant.

First association analyses were carried out by using the relative phenotypic data (elevated CO₂ vs. ambient CO₂) and markers have been identified that are most likely associated with particular yield traits.

Keywords

Hordeum vulgare, winter barley, elevated CO₂, genetic variability, yield, association analysis

Einleitung

Die über die letzten Jahrtausende relativ konstante atmosphärische CO₂-Konzentration von etwa 280 ppm ist durch anthropogene Einflüsse seit Beginn des industriellen Zeitalters bereits auf heutzutage 390 ppm angestiegen. Verschiedene Klimawandel-Projektionen gehen einhellig von einer weiteren Steigerung der CO₂-Konzentration für die Zukunft aus, die sich aller Voraussicht nach sogar noch beschleunigen wird. Lag die Zunahme der CO₂-Konzentration zwischen 1970 und 1999 noch bei 1,3-1,5 ppm pro Jahr, erhöhte sie sich im Jahr 2007 bereits auf 2,2 ppm. Die Projektionen sagen atmosphärische CO₂-Konzentrationen zwischen 460 und 620 ppm bereits im Jahr 2050 voraus (MEEHL et al. 2007).

Während CO₂ als wichtigstes Treibhausgas nach Wasserdampf starken Einfluss auf die Änderungen des Klimas nimmt, ist es gleichzeitig ein essentielles Substrat für die Biomasseerzeugung durch Pflanzen. Höhere CO₂-Konzentrationen stimulieren grundsätzlich unter ansonsten gleichen Bedingungen die Photosynthese bei C3-Pflanzen bei gleichzeitig reduzierter Blatttranspiration und einem damit einhergehenden geringeren Wasserverbrauch. Daher spricht man von einem CO₂-Düngeeffekt.

In verschiedenen Untersuchungen ist jedoch festgestellt worden, dass sich der potentielle Effekt von erhöhtem CO₂ (e[CO₂]) auf die Photosynthese weder in der aktuellen Photosynthese noch in entsprechenden Ertrags- bzw. Biomassezuwächsen wiederfindet (LONG et al. 2006).

Dass Kulturpflanzenarten und Sorten eine erhebliche Variationsbreite in der - in der Regel positiven - Wachstumsreaktion auf erhöhte CO₂-Konzentrationen aufweisen, ist bekannt (KIMBALL 1983). Zudem gibt es Hinweise, dass heutige Sorten das zusätzlich angebotene CO₂ nicht optimal verwerten können. Aus züchterischer Sicht ist daher die Frage nach intraspezifischer Variabilität von großer Bedeutung,

¹ Thünen-Institut für Biodiversität, Bundesallee 50, D-38116 BRAUNSCHWEIG

² Julius Kühn-Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, D-06484 QUEDLINBURG

³ IPK Gatersleben, Corrensstraße 3, D-06466 Stadt Seeland, OT GATERSLEBEN

⁴ Thünen-Institut für Agrarklimaforschung, Bundesallee 50, D-38116 BRAUNSCHWEIG

* Ansprechpartner: Esther MITTERBAUER, esther.mitterbauer@vti.bund.de

soll der CO₂-Düngeeffekt gezielt nutzbar gemacht werden. Diese Fragestellung fand bislang nur wenig Berücksichtigung. So ist die Untersuchung von 17 Reislinien, die unter verschiedenen CO₂-Konzentrationen angebaut wurden, die bislang umfassendste (ZISKA et al. 2012).

Der vorliegende Beitrag berichtet über erste Ergebnisse aus einem Freilandexperiment mit einer umfangreichen Population von Wintergerstegenotypen, die unter verschiedenen CO₂-Konzentrationen aufwuchsen und im Hinblick auf physiologische, morphologische sowie Wachstums- und Ertragsmerkmale phänotypisiert und anschließend unter Berücksichtigung der Populationsstruktur assoziationsgenetisch analysiert wurden.

Material und Methoden

In Freilandversuchen am Thünen-Institut für Biodiversität werden über einen Zeitraum von drei Jahren jeweils 100 Wintergerstegenotypen in sogenannten open-top Kammern angebaut. Die Auswahl der Versuchsglieder erfolgte aufgrund einer vorangegangenen Genotypisierung unter Einbeziehung von 629 Gerste-Accessionen mit dem Illumina iSelect Chip (6808 SNP-Marker) (COMADRAN et al. 2012) und einer Clusteranalyse der in dem Panel enthaltenen 321 Wintergerstegenotypen (Enders, pers. Mitt.) anhand ihrer genetischen Distanz, Herkunft und ihres Alters. Die 100 Wintergerstegenotypen wurden parallel zu der ortsüblichen

Wintergerste-Aussaam im Feld (Mantelsaat) im September 2011 in Multi-Topfplatten im Gewächshaus ausgesät. Rund vier Wochen später wurden je 26 Versuchsgenotypen pro open-top Kammer in Beete inmitten der Mantelsaat gepflanzt, um einen Bestand zu simulieren (Abbildung 1).

Im März 2012 wurden die insgesamt zwölf open-top Kammern (Abbildung 2) über den Beeten platziert. Ab Ende März wurden in jeweils sechs Kammern die Versuchspflanzen aktiv mit Außenluft (~390 ppm CO₂, [amb]) bzw. mit Außenluft plus zusätzlichem CO₂ (700 ppm CO₂, e[CO₂]) belüftet.

Im ersten Anbaujahr wurden verschiedene phänotypische Parameter erfasst, darunter der Ertrag und Ertragsparameter. Unterschiede in der Kohlenstoffdiskriminierung und Blattmorphologie (Anzahl Stomata pro cm²) ausgewählter Genotypen konnten mittels Massenspektrometrie bzw. mittels Lackreliefs von Fahnenblättern nachgewiesen werden. Erste Merkmals-Markerassoziationen wurden anhand der einjährigen Ergebnisse berechnet.

Die Kovarianzanalysen wurden mit SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) unter Anwendung verschiedener Modelle (GLM/MLM) zu einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% durchgeführt. Die Auswertungen erfolgten jeweils nach zwei- und mehrzeiligen Genotypen getrennt in einem Modell, die Genotypen und die CO₂-Konzentration wurden als feste Effekte und die OTCs als zufällige Effekte in den Modellen berücksichtigt.

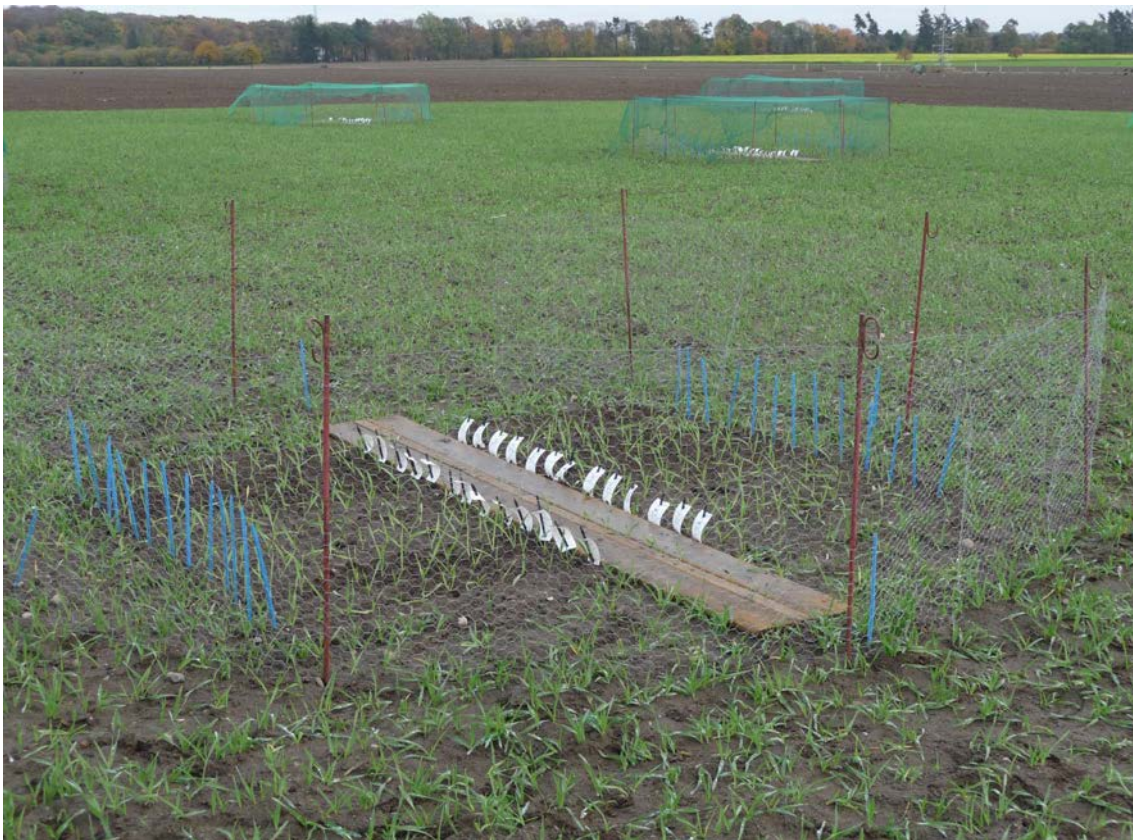


Abbildung 1: 26 Versuchsgenotypen pro open-top Kammer wurden in zwei Beete inmitten der Mantelsaat gepflanzt, um einen Bestand zu simulieren. Jede markierte Reihe entspricht einem Genotypen.

Figure 1: Twenty six genotypes per open-top chamber were transplanted in single rows among the shelter crop rows to simulate a closed canopy. Every labeled row corresponds to one genotype.



Abbildung 2: Zwölf open-top Kammern inmitten der Mantelsaat. Sechs der Kammern wurden mit Außenluft (~390 ppm CO₂), die übrigen sechs mit Außenluft plus zusätzlichem CO₂ (~700 ppm CO₂) belüftet.

Figure 2: Twelve open-top chambers on the field among the shelter crop. Six of the chambers were supplied with ambient air (~390 ppm CO₂) and with ambient air plus additional CO₂ (~700 ppm CO₂), respectively.

Ergebnisse und Diskussion

Die zwei- und sechszeiligen Genotypen unterschieden sich innerhalb der beiden Gruppen hinsichtlich ihres Tausendkorngewichts (TKG) signifikant voneinander. Erhöhtes CO₂ steigerte das TKG der zweizeiligen Genotypen signifikant um 4% von 53,5 auf 55,7 g. Das TKG der sechszeiligen Genotypen stieg um 1% von 44,7 auf 45,3 g.

Zweizeilige und sechszeilige Genotypen unterschieden sich jeweils hinsichtlich ihres Ertrages voneinander, jedoch hatte e[CO₂] lediglich einen signifikant positiven Einfluss auf sechszeilige Genotypen. Der Ertrag (Korngewicht pro Pflanze) stieg um 7% von 6,9 auf 7,4 g pro Pflanze bei den zweizeiligen Genotypen bzw. um 28% von 6,5 auf 8,3 g pro Pflanze bei den sechszeiligen Genotypen.

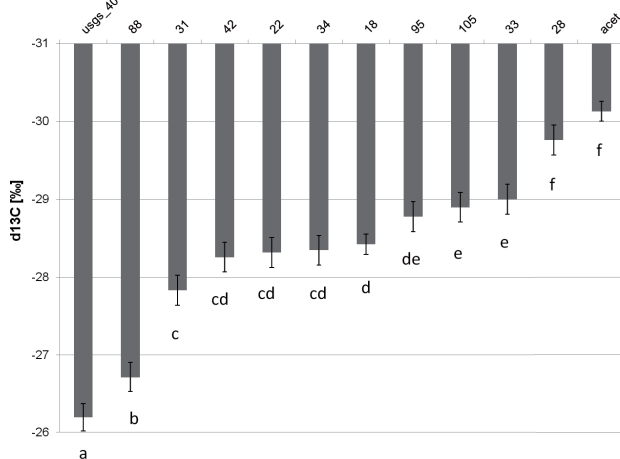


Abbildung 3: Die Kohlenstoffisotopensignaturen (δ¹³C) von zehn Genotypen gewachsen unter Außenluft und zwei Standards (usgs 40/acet). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen (P<0,05)

Figure 3: The carbon isotope signatures (δ¹³C) of ten genotypes grown under ambient air and two standards (usgs 40/acet). Different letters indicate significant differences between the genotypes (P<0.05)

Hinsichtlich der Kornzahl pro Ähre unterschieden sich die zweizeiligen Genotypen voneinander, nicht jedoch die sechszeiligen Genotypen. Beide Gruppen reagierten mit einem signifikant positiven Zuwachs auf e[CO₂]. Die Kornzahl pro Ähre nahm bei zweizeiligen Genotypen um 11% von 19 auf 21 Körner pro Ähre und bei sechszeiligen Genotypen um 12% von 43 auf 48 Körner pro Ähre zu.

Die Anzahl Ähren pro Pflanze unterschied sich bei den zweizeiligen und sechszeiligen Genotypen von einander. e[CO₂] führte bei zweizeiligen Genotypen zu keiner signifikanten Erhöhung der Ährenzahl, bei sechszeiligen stieg sie um 15% von 3,3 Ähren pro Pflanze auf 3,8 Ähren pro Pflanze.

Mittels massenspektrometrischer Bestimmung konnten signifikante Unterschiede der Kohlenstoff-Isotopensignaturen (δ¹³C) zwischen zehn unter normaler Außenluft angebauten Genotypen nachgewiesen werden, die zwischen -26,19 und -30,13‰ lagen (Abbildung 3).

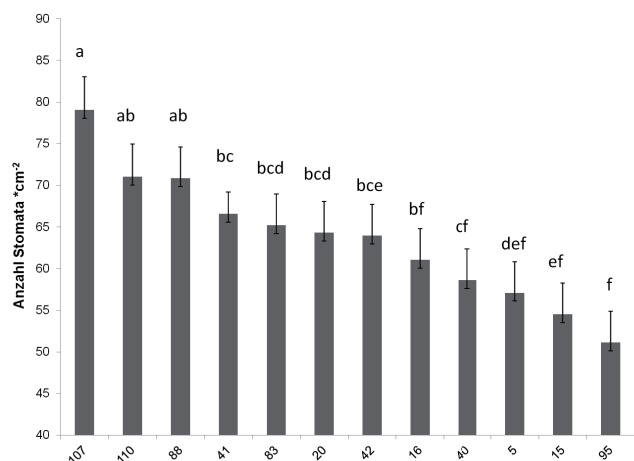


Abbildung 4: Die Anzahl Stomata pro cm² Blattfläche des Fahnenblatts 12 verschiedener Genotypen. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen (P<0,05)

Figure 4: The number of stomata per cm² leaf area of the flag leaf of 12 genotypes. Different letters indicate significant differences between the genotypes (P<0.05)

Die Anzahl Stomata pro cm² der Fahnblätter von 12 unter normaler Außenluft angebauten Genotypen unterschieden sich signifikant von einander und variierte zwischen 51 und 79 Stomata pro cm² (Abbildung 4).

Erste Assoziationsanalysen (MLM in Tassel 3.0; <http://www.maizegenetics.net>) anhand von 3842 Markern, die auf der Morex×Barke Karte kartiert werden konnten und eine Minorallelfrequenz von >5% aufwiesen, wurden durchgeführt. Dabei wurden die Populationsstruktur und Verwandtschaft berücksichtigt. Verrechnet wurden jeweils die relativen Daten ($e[\text{CO}_2]/[\text{amb}]$). Es konnte je ein Marker auf den Chromosomen 2H und 5H gefunden werden, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit den Merkmalen Ertragszuwachs und TKG assoziiert sind ($P < 0,001$). Mit dem Merkmal Anzahl Körner pro Ähre sind vier Marker assoziiert, drei auf Chromosom 6H, eines auf Chromosom 3H. Für das Merkmal Anzahl Ähren pro Pflanze konnten keine assoziierten Marker identifiziert werden (Abbildung 5).

In diesem ersten Versuchsjahr ließen sich Unterschiede der untersuchten Genotypen hinsichtlich ihrer Reaktion auf $e[\text{CO}_2]$ feststellen. Allerdings zeigten sich deutliche Unterschiede in den Reaktionen auf $e[\text{CO}_2]$ zwischen den zwei- und sechszeiligen Genotypen. Die Gründe für diese Unterschiede müssen in weiteren Versuchen geklärt werden. Möglicherweise spielen hier die unterschiedlichen Senkenstärken zwischen den morphologisch verschiedenen Linien eine Rolle. Zusammenhänge mit der Kohlenstoffdiskriminierung während der Photosynthese oder der Blattbeschaffenheit können anhand der vorläufigen Ergebnisse nur vermutet werden. In den kommenden beiden Jahren müssen die Versuche wiederholt werden, um die vorliegenden Ergebnisse zu verifizieren und die Datengrundlage zu verbessern.

Danksagung

Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

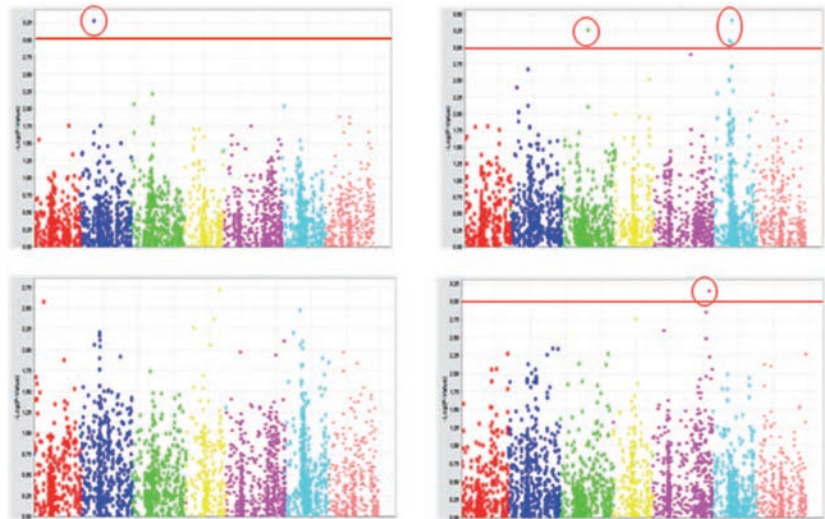


Abbildung 5: Scatterplotdarstellung der Markerpositionen auf den Chromosomen aufgetragen gegen den $-\log_{10}$ P-value für Ertrag, Kornzahl pro Ähre, Tausend-korngewicht und Anzahl Ähren pro Pflanze (im Uhrzeigersinn von links oben). Die Line markiert den Schwellenwert $P=0,001$. Mit Kreisen markiert sind Marker, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit den Merkmalen assoziiert sind.

Figure 5: Scatterplot of chromosomal position (x axis) against $-\log_{10}$ GWAS P-value (y axis) for yield, number of seeds per ear, thousand-kernel weight and number of ears per plant (clockwise from top left). The line indicates the threshold of $P=0.001$. Markers associated with the traits are depicted by circles.

Literatur

- COMADRAN J, KILIAN B, RUSSELL J, RAMSAY L, STEIN N, GANAL M, SHAW P, BAYER M, THOMAS W, MARSHALL D, HEDLEY P, TONDELLIA, PECCHIONI N, FRANCIA E, KORZUN V, WALTHERA, WAUGH R, 2012: Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nature Genet* 44, 1388-1392.
- KIMBALL BA, 1983: Carbon-dioxide and agricultural yield - an assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agron J* 75, 779-788.
- LONG SP, AINSWORTH EA, LEAKEY ADB, NÖSBERGER J, ORT DR, 2006: Food for thought: Lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312, 1918-1921.
- MEEHL GA, STOCKER TF, COLLINS WD, FRIEDLINGSTEIN P, GAYE AT, GREGORY JM, KITOH A, KNUTTI R, MURPHY JM, NODA A, RAPER SCB, WATTERSON IG, WEAVER AJ, ZHAO ZC, 2007: Global climate projections. In: SOLOMON S, QIN D, MANNING M, CHEN Z, MARQUIS M, AVERYT KB, TIGNOR M, MILLER HL (Eds.), *Climate change 2007: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- ZISKA LH, BUNCE JA, SHIMONO H, GEALY DR, BAKER JT, NEWTON PCD, REYNOLDS MP, JAGADISH KSV, ZHU C, HOWDEN M, WILSON LT, 2012: Food security and climate change: on the potential to adapt global crop production by active selection to rising atmospheric carbon dioxide. *Proc Roy Soc B Biol Sci* 279, 4097-4105.

Effect of elevated atmospheric CO₂ level on the abiotic and biotic stress tolerance of cereals

Szilvia Bencze^{1*}, Krisztina Balla¹, Tibor Janda¹, Gyula Vida¹ and Ottó Veisz¹

Abstract

Effect of elevated CO₂ level (EC) was studied on the tolerance of cereals to elevated temperature and drought and on the resistance of wheat to fungal diseases. In general, elevated growth temperature did not affect final grain size, thus having less harmful effects than heat stress or drought during grain-filling. The plants subjected to low water supply levels or elevated temperature had higher biomass and grain yield at EC than at the ambient level. Susceptible wheat varieties were, however, usually more prone to diseases when grown at EC, while resistant varieties remained resistant even at EC.

Keywords

Barley, disease resistance, drought, durum, global warming, high temperature, oat, triticale, wheat

Introduction

The CO₂ concentration of the atmosphere has been steadily increasing since the beginning of the industrial era, reaching a value 40% higher nowadays than the last stable level. The greenhouse effect is considered as one of the main driving forces of global warming of the Earth's surface causing a change in climate which results in considerable uncertainty in crop production due to e.g. lack of precipitation or excessive rainfall, a higher frequency of heat days or early spring frosts.

Elevated atmospheric CO₂ levels also have direct impacts on plants: CO₂ assimilation and transpiration is positively affected and as a result of water use efficiency and rate of organic matter accumulation is increased (TUBA et al. 1994). Crop yield is affected not only in quantitative but also in qualitative terms, as elevated CO₂ may change the nutrient demand and uptake of plants, and cause a dilution of various elements in plant tissues. The change in the composition of plant parts, together with a higher level of protective compounds produced in response to elevated CO₂ also affect infection severity of plant pathogens, while the reduced stomatal opening and lower humidity on the plant surface may hinder the penetration of certain pathogens (HIBBERD et al. 1996, McELRONE et al. 2005, CHAKRABORTY et al. 2008, EASTBURN et al. 2011).

Increased CO₂ levels during the growth of cereals result in better resistance to frost (VEISZ 1997, HARNOS et al. 1998). The rate of net photosynthesis and water use efficiency (WUE) of C₃ plants are higher at elevated CO₂ also in

water-limited environments (TUBA et al. 1996). Although high temperature during anthesis and grain filling causes reductions in kernel number and size, kernels per spikelet, grain yield and harvest index (BLUMENTHAL et al. 1995), the effects of heat stress can be reduced by elevated CO₂ (TAUB et al. 2000, BENCZE et al. 2004, KADDOUR and FULLER 2004). High temperatures may, however, have negative effects on flour quality (BLUMENTHAL et al. 1995).

Realizing the importance of interactions between elevated CO₂ and other environmental factors in cereal production, the staff of the Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, began research on the impacts of elevated CO₂ on a wide basis including nutrient supply, elevated growth temperature, drought and heat stress during grain filling, and some fungal pathogens as biotic stress factors. The present paper discusses the effect of elevated CO₂ level on the resistance of a variety of small grain cereal species to biotic and abiotic stresses, based on results of experiments carried out in the Martonvásár phytotron.

Materials and methods

A series of experiments was conducted under controlled environmental conditions in Conviron PGV-36 growth chambers in the phytotron of the Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, HAS, Martonvásár, Hungary. Varieties of small grain cereal species were chosen for the tests. Four seedlings in the one-leaf stage were planted directly (spring varieties) or after vernalization (4°C, 42 d) (winter varieties) in 2.8 l pots. There were at least 8 pots per genotype and treatment. The pots were placed randomly in the growth chambers and rearranged regularly.

The plants were watered daily and supplied with nutrients in tap-water (0.33 g·l⁻¹ Volldünger Linz solution, Austria, 3 dl·pot⁻¹) two times per week until the beginning of the first stress treatment (for the experiment on low nitrogen (N) supply the information given below applies). Growth conditions in the chambers were the same, except for atmospheric CO₂ level, which was either ambient *i.e.* normal (NC, 390 µmol·mol⁻¹) or elevated (EC, 750 µmol·mol⁻¹). Temperature was changed weekly increasing from 10/12/10.7°C (min/max/mean) at the beginning 20/24/22.7°C at maturity (TISCHNER et al. 1997). The maximum photosynthetic photon flux density increased from 280 to 400 µmol·m⁻²·s⁻¹.

The following treatments were applied as abiotic environmental factors: (i) low N supply with no added N above that provided in the soil, compared to 400 mg N·kg⁻¹ soil

¹ Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, HAS, P.O.Box 19, H-2462 MARTONVÁSÁR

* Corresponding author: Szilvia BENCZE, bencze.szilvia@agrar.mta.hu

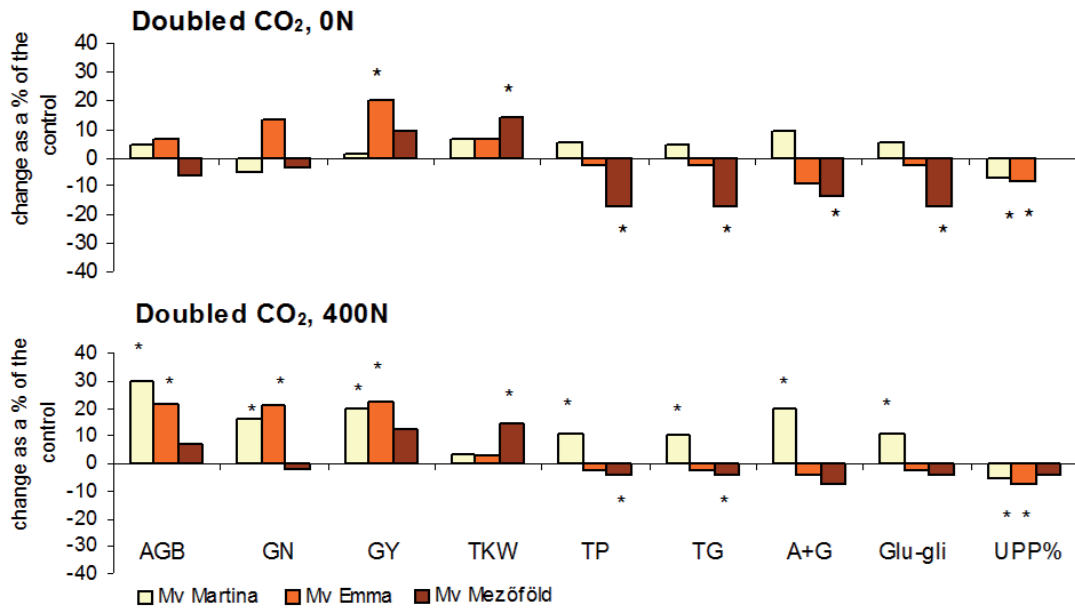


Figure 1. Impact of nitrogen supply on the development and grain quality of winter wheat grown at elevated CO₂ (*significant at $P < 0.05$ compared to the control: 400 mg·kg⁻¹ soil N, ambient CO₂). AGB, aboveground biomass; GN, grain number; GY, grain yield per plant; TKW, thousand kernel weight; TP, total protein content; TG, total gluten content; A+G, albumins and globulins; Glu-gli, glutenin to gliadin ratio; UPP%, unextractable polymeric protein content (determined with HPLC according to BATEY et al. (1991) and GUPTA and MACRITCHIE (1994)).

dry weight (in the form of NH₄NO₃ in ten applications until heading); (ii) heat stress during grain filling (35°C max. temperature for 15 d, 8 h daily, starting 12 d after heading); (iii) elevated growth temperature (+2°C from seedling stage, compared to ambient levels); (iv) drought (7 d water withdrawal, beginning 10 d after heading).

To study the impact of elevated CO₂ on disease severity, artificial inoculations with uredospore suspensions of leaf rust (LR, *Puccinia triticina*) and stem rust (SR, *Puccinia graminis*), and conidia of Fusarium head blight (FHB, *Fusarium culmorum*) were applied on plants of three winter wheat varieties differing in resistance levels (for details see BENCZE et al. 2013). The disease severity of spontaneously occurring powdery mildew (PM, *Blumeria graminis*) was evaluated twice, using a 0-9 scale (SAARI and PRESCOTT 1975). The disease progress of LR, SR and FHB was monitored till early maturity. The results were evaluated with Mann-Whitney Test (SPSS 16.0).

Results and discussion

Effect of nitrogen on winter wheat grown at elevated CO₂

Elevated CO₂ has been reported to lead to more intense biomass accumulation (KIMBALL et al. 1995, HARNOS et al. 1998). However, the stimulating effect of elevated CO₂, as was found here, is dependent on the nutrient supply, and especially on the availability of N (Figure 1). At low N, EC had no significant effect on biomass production while one variety still had higher grain yield. At optimal N supply, however, significant increases in biomass, grain number and grain yield per plant were recorded in two varieties in response to EC. One variety had increased thousand kernel

weight (TKW) at both N levels due to elevated CO₂, but at low N it had lower protein and gluten contents and glutenin to gliadin ratio in the grain. The decline in the unextractable polymeric protein content in two varieties suggested a possible weakening of dough due to elevated CO₂.

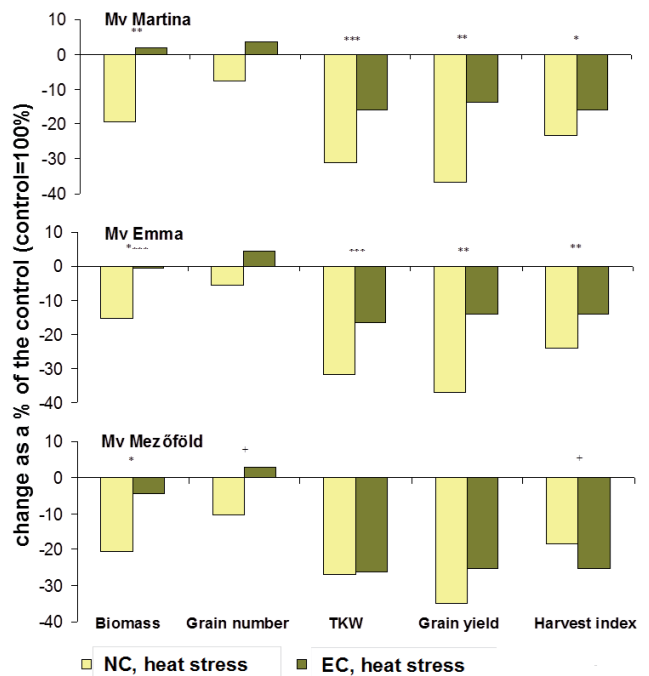


Figure 2. Effect of elevated CO₂ level and heat stress on yield and yield components of winter wheat (Control = ambient temperature and CO₂; NC, normal CO₂ level; EC, elevated CO₂ level; significance levels are indicated for the difference between NC and EC)

Effect of elevated CO₂ on heat stress tolerance of wheat

EC resulted in more intense biomass accumulation also in heat stressed plants, which had similar biomass values to unstressed plants grown at NC (Figure 2). Heat stress caused a 16-24% decrease in TKW in all the varieties at ambient CO₂ level, resulting in a 19-35% loss in grain yield (significant in two varieties). This was similar to results of BLUMENTHAL et al. 1995. When grown at high CO₂, two varieties tolerated heat stress better as both TKW and grain yield were significantly higher at doubled CO₂ than at the ambient level, though the values were still lower than the control. In the third variety, EC resulted in a higher grain number causing a slight increase in grain yield. Heat stress caused a significant increase in grain protein content but the decrease in gluten index indicated deterioration of gluten quality in two varieties (Figure 3). EC had, however, counteracting effects on protein content.

Effect of elevated CO₂ and growth temperature on cereals

Elevated growth temperature, 2°C higher than the ambient level, resulted in a decrease in biomass accumulation, grain number and yield per plant and in reduced harvest index (Figure 4). This was due to a faster phenological development; as heading and maturation took place on average 4 and 6 days earlier, respectively, than at the ambient temperature. However, TKW and grain protein content did not change in response to elevated growth temperature, suggesting a more harmonious development of the plants than in the case of heat stress. When the plants were grown at EC, the loss of grain yield due to elevated temperature was fully compensated by increased grain number and TKW.

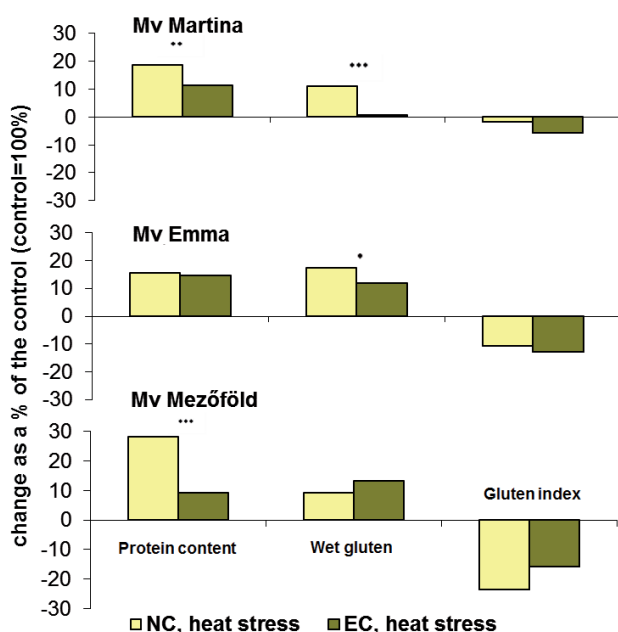


Figure 3. Effect of elevated CO₂ level and heat stress on quality traits of winter wheat (Control = ambient temperature and CO₂; NC, normal CO₂ level; EC, elevated CO₂ levels; significance levels indicate the difference between NC and EC)

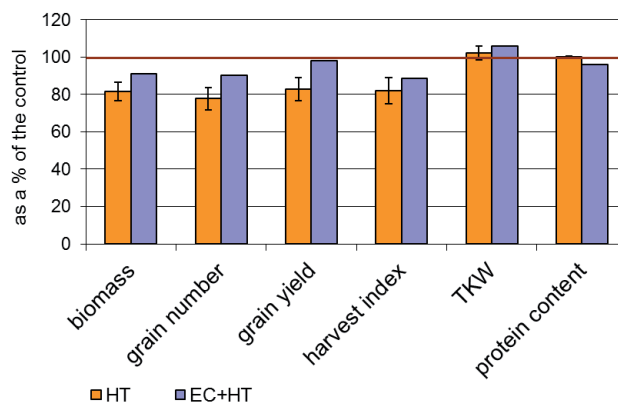


Figure 4. Effect of elevated growth temperature on mean performance of cereals at ambient and elevated CO₂ levels (Control = ambient temperature and CO₂ level; ET, elevated temperature; EC, elevated CO₂ level; investigated varieties: 'Petra' (winter barley), 'Bezostaja 1', 'Apache', 'Libellula', 'Mv Regiment', 'Mv Béres', 'Mv Emma' (winter wheat), 'Kitaro' (winter triticale), 'Jubilant' (spring barley), 'Mv Pehely', 'Kwant' (spring oat))

Effect of elevated CO₂ and drought on cereals

Drought stress had a severe effect, very similar to heat stress, on grain yield per plant; mainly due to decreased TKW (Figure 5). There was also a slight decrease in grain number per plant, which was eliminated when the plants were grown at EC. Although there was some increase of TKW in response to EC also under drought, CO₂ enrichment probably had more influence in the period preceding heat stress than during or after it. Grain protein content was increased by drought as a result of a decrease in starch accumulation.

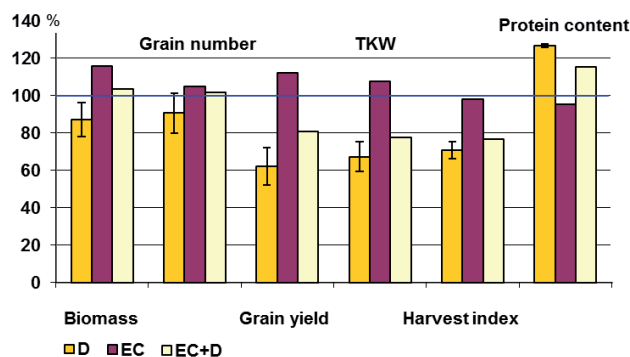


Figure 5. Effect of elevated CO₂ on mean performance of cereals under drought (Control = ambient temperature and CO₂ level; D, drought stress; EC, elevated CO₂ level; investigated varieties: 'Petra' (winter barley), 'Libellula', 'Mv Regiment', 'Mv Mambó' (winter wheat), 'Mv Makaróni' (winter durum), 'Lona' (spring wheat), 'Mv Pehely' (spring oat))

Effect of elevated CO₂ on wheat diseases

EC had also a considerable impact on the diseases severity of wheat. Susceptible varieties exhibited rarely similar but usually more severe symptoms of PM, SR and LR at EC than at the ambient level (Table 1). There was only one exception recorded for increased resistance to LR; in the highly susceptible variety at seedling stage. Resistant varieties, however, remained resistant even at EC. When the whole spikes were inoculated with a suspension of FHB conidia,

Table 1. Change in disease severity of wheat varieties in response to elevated CO₂ (LR, leaf rust; SR, stem rust; PM, powdery mildew; FHB, Fusarium head blight; –, not tested; NS, no significant change; ↑, more severe; ↓, less severe; +, *, **, ***, significantly at $P < 0.1, 0.05, 0.01$ and 0.001 , respectively; NS, not significant; R, resistant)

Variety	LR seedling stage	LR adult plant	SR	PM	FHB single floret inoculation	FHB whole spike inoculation
Alcedo	↓ ***	-	-	-	-	-
Mv Regiment	↑ +	↑ ***	NS	R	↓ *	NS
Mv Emma	-	↑ ***	↑ **	↑ ***	↑ +	↑ *
Mv Mambó	-	R	R	↑ ***	NS	↑ *

two varieties exhibited increased susceptibility while there was no change in the third variety. In the case of single floret inoculation with FHB, this latter variety showed increased resistance at high CO₂, while there was no change or FHB was more severe in the other two varieties.

The above results suggest that EC had very favourable effects on plants under high temperature stress or drought, as it could decrease or eliminate their negative effects on yield parameters. In the case of diseases, however, more severe symptoms were found on plants of the susceptible varieties at high CO₂, but resistant varieties remained unaffected, exhibiting no visible symptoms even when grown at EC.

Acknowledgements

This research was supported by the projects TÁ-MOP-4.2.2.b-10/1-2010-0025 and TÁMOP-4.2.2.A-11/1KONV-2012-0064 and by a grant from the National Scientific Research Fund OTKA K-105949.

References

- BATEY IL, GUPTA RB, MACRITCHIE F, 1991: Use of size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins: An improved chromatographic procedure. *Cereal Chem* 68, 207-209.
- BENCZE S, VEISZ O, BEDŐ Z, 2004: Effects of high atmospheric CO₂ and heat stress on phytomass, yield and grain quality of winter wheat. *Cereal Res Commun* 32, 75-82.
- BENCZE S, VIDA G, BALLA K, VARGA-LÁSZLÓ E, VEISZ O, 2013: Response of wheat fungal diseases to elevated atmospheric CO₂ level. *Cereal Res Commun* 41, in press.
- BLUMENTHAL C, BEKES F, GRAS PW, BARLOW EWR, WRIGLEY CW, 1995: Identification of wheat genotypes tolerant to the effects of heat stress on grain quality. *Cereal Chem* 72, 539-544.
- CHAKRABORTY S, LUCK J, HOLLAWAY G, FREEMAN A, NORTON R, GARRETT KA, PERCY K, HOPKINS A, DAVIS C, KARNOSKY DF, 2008: Impacts of global change on diseases of agricultural crops and forest trees. *CAB Rev Perspect Agric Vet Sci Nutr Natural Resour* 3, 1-15.
- EASTBURN DM, MCELDRONE AJ, BILGIN DD, 2011: Influence of atmospheric and climatic change on plant-pathogen interactions. *Plant Pathol* 60, 54-69.
- GUPTA RB, MACRITCHIE F, 1994: Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1*, of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *J Cereal Sci* 19, 19-29.
- HARNOS N, VEISZ O, TISCHNER T, 1998: Effects of elevated CO₂ concentration on the development and yield components of cereals. *Acta Agron Hung* 46, 15-24.
- HIBBERD JM, WHITBREAD R, FARRAR JF, 1996: Effect of elevated concentrations of CO₂ on infection of barley by *Erysiphe graminis*. *Physiol Mol Plant Pathol* 48, 37-53.
- KADDOUR AA, FULLER MP, 2004: The effect of elevated CO₂ and drought on the vegetative growth and development of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Cereal Res Commun* 32, 225-232.
- KIMBALL BA, PINTER PJ, GARCIA RL, LaMORTE RL, WALL GW, HUNSAKER DJ, WECHSUNG G, WECHSUNG F, KARTSCHALL T, 1995: Productivity and water use of wheat under free-air CO₂ enrichment. *Global Change Biol* 1, 429-442.
- MCELDRONE AJ, REID CD, HOYE KA, HART E, JACKSON RB, 2005: Elevated CO₂ reduces disease incidence and severity of a red maple fungal pathogen via changes in host physiology and leaf chemistry. *Global Change Biol* 11, 1828-1836.
- SAARI EE, PRESCOTT JM, 1975: A scale for appraising the foliar intensity of wheat disease. *Plant Dis Rep* 59, 377-380; (cited in STUBBS et al. 1986).
- STUBBS RW, PRESCOTT JM, SAARI EE, DUBIN HJ, 1986: *Cereal disease methodology manual*. CIMMYT, Mexico.
- TAUB DR, SEEMAN JR, COLEMAN JS, 2000: Growth in elevated CO₂ protects photosynthesis against high-temperature damage. *Plant Cell Environ* 23, 649-656.
- TISCHNER T, KŐSZEGI B, VEISZ O, 1997: Climatic programmes used in the Martonvásár Phytotron most frequently in recent years. *Acta Agron Hung* 45, 85-104.
- TUBA Z, SZENTE K, KOCH J, 1994: Response of photosynthesis, stomatal conductance, water use efficiency and production to long-term elevated CO₂ in winter wheat. *J Plant Physiol* 144, 661-668.
- VEISZ O, 1997: Effect of abiotic and biotic environmental factors on the frost resistance of winter cereals. *Acta Agron Hung* 45, 247-255.

Note: The online version of the proceedings includes figures in colour. It can be either downloaded from the homepage of the meeting (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) or requested from the corresponding author.

Feldstudien zur Vererbung der Trockenheitstoleranz von Hybridroggen in Mitteleuropa

Field studies on the inheritance of drought tolerance of hybrid rye in Central Europe

Stefan Haffke^{1*}, Marlen Hübner¹, Peer Wilde², Brigitta Schmiedchen²,
Barbara Kusterer³, Bernd Hackauf⁴ und Thomas Miedaner^{1*}

Abstract

Drought stress will play a major role in the 21st century in Europe's agriculture. Rye will be affected more than other crops, because rye is typically grown in marginal regions with sandy soils of low water-holding capacity and less rainfall. Therefore, drought tolerant rye cultivars are urgently needed. The main objective of our study was to evaluate the drought stress tolerance of rye hybrids using large-scaled field experiments. We evaluated three populations. Pop A und Pop B tested with 220 F_{3:4} lines each belong to the 'Petkus' gene pool, Pop C tested with 240 F_{3:4} lines belongs to the 'Carstens' gene pool. All lines were testcrossed and evaluated at three locations: Wohlde and Petkus in Germany and Walewice, Poland. Pop A und B were tested in 2010 and 2011, Pop C in 2011 and 2012. All genotypes were evaluated in irrigated and non-irrigated variants in a split-block-design. Natural drought stress occurred mainly in the second quarter of all three years. The most sensitive trait was grain yield. Grain yield differences ranged from 2 to 41% with an average of 19%. Differences between irrigated and non-irrigated variants were significant in 15 out of 18 environment-population combinations. Significant genotype×irrigation interaction variance occurred in nine combinations, but had only a minor effect on genotype ranking. Higher error variances caused lower heritabilities in the non-irrigated variant. In conclusion, indirect selection for drought-tolerant genotypes under irrigated conditions would increase selection gain and also lead to higher yielding cultivars under drought stress.

Keywords

Hybrid breeding, indirect selection, population parameter, *Secale cereale*, water stress

Einleitung

Der Klimawandel wird in diesem Jahrhundert in Mitteleuropa einen zunehmenden Einfluss auf den Ackerbau

haben. Aktuelle Prognosen rechnen mit einer Zunahme der Niederschläge in Wintermonaten, während die Niederschlagsmenge im Frühjahr und Sommer in manchen Regionen stark abnehmen wird (DWD 2011). Roggen wird vorrangig auf nährstoffarmen und leichten Standorten angebaut, weil er hier gegenüber anderen Getreidearten erhebliche Wettbewerbsvorteile besitzt (ECOPORT DATABASE 2002). Deshalb wird er trotz seiner Stresstoleranz von dieser Entwicklung besonders stark betroffen sein, da diese Standorte auf Grund der geringeren Sorptionskraft ihrer Böden noch stärker durch Trockenstress beeinträchtigt sind. Trotzdem gibt es bisher nur eine Studie (HÜBNER et al. 2013), die sich mit der spezifischen Trockentoleranz von Roggen beschäftigt.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial umfasste insgesamt drei Populationen aus aktuellen Zuchtprogrammen der beiden Formkreise des Roggens. Der Saatelterpool Petkus wurde an Hand von zwei Populationen (A; B) untersucht. Aus zwei biparentalen Kreuzungen (A: A×B und B: A×C) wurden jeweils 220 F_{3:4} Linien entwickelt und anschließend mit einem unverwandten Tester aus dem Petkuser Formenkreis gekreuzt. Auf Seiten des Pollenelternpools wurden 240 Nachkommen einer Kreuzung (R×S) zu F_{3:4} Linien weitergeführt und ebenfalls mit einem Tester aus dem Petkuser Formenkreis gekreuzt.

Feldversuch

Die Versuche wurden über drei Jahre an drei Standorten durchgeführt: In Wohlde, Niedersachsen, Petkus, Brandenburg und in Walewice, Polen. Die Populationen A und B wurden in den Jahren 2010 und 2011 und die Population C in den Jahren 2011 und 2012 geprüft. Die Parzellen waren rund 5 m² groß, der Versuch wurde mit einer hohen Düngungs- und Pflanzenschutzintensität durchgeführt. Für das Versuchsdesign wurde eine Streifenanlage in zwei

¹ Landessaatuchtanstalt, Universität Hohenheim, D-70593 STUTTGART

² KWS LOCHOW GMBH, D-29303 BERGEN

³ Hybro GmbH & Co. KG, D-17291 SCHENKENBERG

⁴ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, D-18190 SANITZ

* Ansprechpartner: Thomas MIEDANER, thomas.miedaner@uni-hohenheim.de

Tabelle 1: Kornerträge (dt·ha⁻¹) über die bewässerte (B) und unbewässerte (UB) Variante sowie die Ertragsdifferenzen (ΔB, %) an den einzelnen Standorten für zwei Populationen des Saatelter- und eine Population des Pollenelterformenkreises

Table 1: Grain yield (dt·ha⁻¹) for irrigated (B) and non-irrigated (UB) variant, difference in grain yield (ΔB, %) for two populations of the seed parent- and one population of the pollen parent gene pool at each location

		Saatelter			Pollenelter					
		Pop A (A×B)			Pop B (A×C)			Pop C (R×S)		
		B	UB	ΔB (%)	B	UB	ΔB (%)	B	UB	ΔB (%)
2010	Wohlde	81.5	59.1	27.5** ^a	75.2	54.6	27.4** ^a	-	-	-
	Petkus	52.0	49.7	4.4*	51.1	49.3	3.5	-	-	-
	Walewice	53.8	52.8	1.9	50.8	49.8	2.0	-	-	-
	Mittel	62.4	53.9	13.6	59.0	51.2	13.2	-	-	-
2011	Wohlde	99.1	73.0	26.3**	97.8	58.2	40.5** ^a	101.2	79.1	21.8**
	Petkus	87.9	61.9	29.6** ^a	92.0	60.7	34.0** ^a	81.3	59.2	27.2**
	Walewice	92.5	82.9	10.4** ^a	83.6	71.8	14.1** ^a	85.1	72.4	15.0** ^a
	Mittel	93.2	72.6	22.1	91.3	63.6	30.3	89.2	70.2	21.3
2012	Wohlde	-	-	-	-	-	-	98.9	86.5	12.5**
	Petkus	-	-	-	-	-	-	82.8	70.9	14.4*
	Walewice	-	-	-	-	-	-	97.5	84.5	13.3** ^a
	Mittel	-	-	-	-	-	-	93.1	80.6	13.4

*,** signifikante Ertragsunterschiede zwischen bewässertem und unbewässertem Variante ($P < 0.05$ bzw. $P < 0.01$)

^a signifikante Genotyp×Bewässerungsinteraktion bei $P \leq 0.1$

Wiederholungen gewählt. Die Genotypen der bewässerten und unbewässerten Variante lagen dabei unmittelbar gegenüber, um Bodenunterschiede zu minimieren und die Genotyp×Bewässerungs-Interaktion exakter zu ermitteln. Die bewässerte Variante wurde mittels einer Tröpfchenbewässerung bewässert, die je nach Ort und Wetter individuell geregelt wurde.

Statistische Auswertung

Die gesamte Analyse wurde in drei Schritten mit Plabstat (UTZ 2010) durchgeführt:

- (1) Einzelverrechnung: für jede Variante, jeden Ort und jede Population wurde eine Gitteranalyse gerechnet;
- (2) Serienverrechnung, getrennt für die Variante „Bewässert“ bzw. „Unbewässert“ und für die Populationen A, B und C mit Hilfe der adjustierten Gittermittelwerte (BLUEs);
- (3) Faktorielle Serienanalyse über die Varianten „Bewässert“ und „Unbewässert“ hinweg zur Bestimmung des Haupteffekts der Bewässerung und der Genotyp×Bewässerungs-Interaktion. Hierbei wurden nur die Jahr×Orts-Kombinationen mit einer signifikanten Genotyp×Bewässerungs-Interaktion für die Analyse herangezogen.

Ergebnisse

Das sensitivste Merkmal war der Kornertrag. Andere Merkmale, wie Wuchshöhe, Ährenschieben und Tausendkorngewicht, wiesen zwar Unterschiede zwischen bewässertem und unbewässertem Variante auf, diese waren aber geringer ausgeprägt als beim Kornertrag. Es ergaben sich Ertragsunterschiede von 1,9 bis 40,5% (Tabelle 1).

Eine signifikante Differenz der Erträge ergab sich in 15 von 18 Fällen, während immerhin in neun Fällen eine signifikante Genotyp×Bewässerungs-Interaktion nachgewiesen wurde. Bei Betrachtung über die Umwelten hinweg waren die genotypischen Varianzen bei allen drei Populationen signifikant (Tabelle 2). Die Interaktionsvarianzen mit dem Faktor Bewässerung waren in allen Fällen signifikant. Sie

Tabelle 2: Varianzkomponenten der faktoriellen Analyse über die bewässerte bzw. unbewässerte Variante (B:UB) und Heritabilitäten für die bewässerte (B) bzw. unbewässerte (UB) Variante für den Kornertrag

Table 2: Variance components for factorial analysis over irrigated/non irrigated variant (B:UB) and heritability for grain yield under irrigated (B) and non-irrigated (UB) variant

Parameter	Pop A	Pop B	Pop C
Varianzen B:UB:			
σ^2_G	3.82**	4.38**	5.26**
$\sigma^2_{G \times U}$	4.28**	4.32**	4.59**
$\sigma^2_{G \times B}$	0.88*	0.98*	2.31**
$\sigma^2_{G \times B \times U}$	0.92 ⁺	1.72**	1.65*
σ^2_e	15.18	13.89	8.71
Heritabilität B	0.62	0.70	0.49
Heritabilität UB	0.38	0.50	0.43

⁺, **, * Signifikant bei $P < 0.1$, 0.05 und 0.01 ; σ^2_G , genotypische Varianz; $\sigma^2_{G \times U}$, Genotyp×Umwelt-Interaktion; $\sigma^2_{G \times B}$, Genotyp×Bewässerungs-Interaktion; $\sigma^2_{G \times B \times U}$, Genotyp×Umwelt×Bewässerungs-Interaktion; σ^2_e , Fehler

machten bei Population A und B etwa die Hälfte der genotypischen Varianz aus, bei Population C hatten sie fast die gleiche Größe. Der davon für den Züchter nutzbare Anteil, die Genotyp×Bewässerungs-Interaktionsvarianz, war bei Population A und B gering, bei Population C machte er die Hälfte der genotypischen Varianz aus. Mittlere bis hohe Heritabilitäten ergaben sich in der bewässerten Variante. Bei den Populationen A und B lagen die Heritabilitäten der unbewässerten Variante deutlich unter denen der bewässerten Variante, bei Population C zeigten beide Varianten nur eine mäßige Heritabilität.

Die Erträge der bewässerten und unbewässerten Variante in Population A und B zeigten mittlere phänotypische und hohe genotypische Korrelationen (Abbildung 1). Für Population C zeigte sich eine signifikante ($P < 0.01$) phänotypische Korrelation von $r = 0.56$. Die genotypische Korrelation lag mit $r = 0.8$ in derselben Größenordnung wie bei Population A und B.

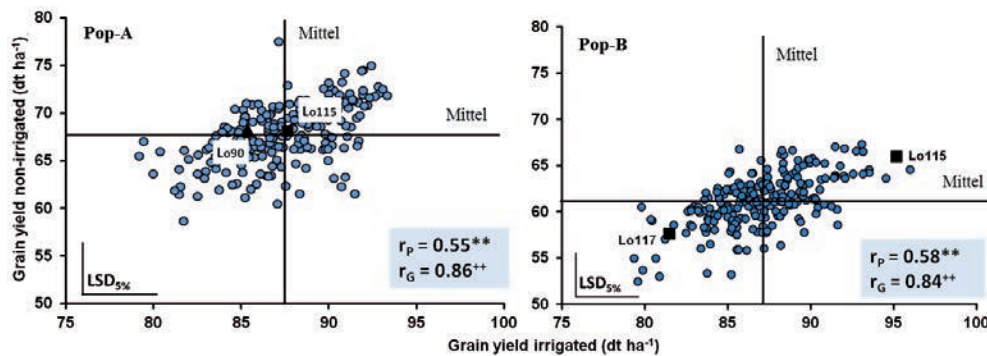


Abbildung 1: Kornträge ($\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$) der bewässerten und unbewässerten Variante für die Populationen A und B sowie der beiden Elternlinien in den Umwelten mit signifikanter Genotyp \times Bewässerungs-Interaktion (r_p , phänotypische Korrelation; r_G , genotypische Korrelation; $\text{LSD}_{5\%}$, Grenzdifferenz bei $P < 0.05$)

Figure 1: Grain yield ($\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$) of the irrigated versus non-irrigated variant for population A and B and their parents across environments with significant genotype \times irrigation interaction variance

Schlussfolgerungen

An fast allen Standorten mit mittleren bis leichten Böden trat durch den geringen Niederschlag im zweiten Quartal der Jahre 2010 bis 2012 natürlicher Trockenstress auf. Deshalb führte die Tröpfchenbewässerung in der bewässerten Variante zu durchschnittlich 19% erhöhten Kornträgen. Der Versuchsaufbau war eine geeignete Alternative gegenüber *rain-out shelters*, da in 5 m^2 Parzellen über tausend Prüfglieder unter natürlichen, ortsspezifischen Bedingungen getestet werden konnte. Weiterhin wurde durch eine hohe Bestandesdichte, hohe N Düngung und die eingeschränkte Randomisation versucht, Bodenunterschiede zu minimieren. Allerdings konnten nur dann Bewässerungs-Effekte erzielt werden, wenn die Witterungsbedingungen entsprechend trocken waren. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Varianten „bewässert“ und „unbewässert“ konnten dabei in den meisten Fällen nachgewiesen werden, lediglich die Population B in Petkus (2010) und der Versuch in Walewice (2010), der durch ein Hochwasser beeinträchtigt wurde, stellten eine Ausnahme dar. Trotz der ackerbaulichen Maßnahmen lagen die Heritabilitäten der unbewässerten Variante der Populationen A und B deutlich unter denen der bewässerten Variante. Ebenso weisen die hohen genetischen Korrelationen in allen drei Populationen auf geringe genotypische Unterschiede für Trockenstresstoleranz hin (HÜBNER et al. 2013).

Das untersuchte Material des Saatelter-Formenkreises zeigte trotz des erheblichen Trockenstresses, der durch einen durchschnittlichen Ertragsunterschied von 19% dokumentiert wird, offensichtlich bereits eine erhöhte Toleranz. Immerhin wurden im Mittel noch 67 $\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Pop. A) bzw. 62 $\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Pop. B) in der unbewässerten Variante gedroschen. Eine Ursache ist sicherlich die fortwährende Selektion durch die Züchter, die routinemäßig immer auch auf leichten Standorten mit entsprechenden Stressfaktoren prüfen. Bei den gefundenen Korrelationen führt eine Selektion in „normalen“ Umwelten bis zu einem gewissen Maße auch zu verbesserten Erträgen unter Trockenstressbedingungen (CATTIVELLI et al. 2008). Um Roggen den klimatischen Veränderungen weiter anzupassen, ist aufgrund der hohen genetischen Korrelationen eine indirekte Selektion innerhalb des aktuellen Zuchtmaterials vorzuziehen. Zudem kann bei Verzicht auf die Trockenstressvariante der Prüfumfang

verdoppelt werden, was die Selektionsintensität erhöht. Die höheren Heritabilitäten innerhalb der bewässerten Variante erlauben zudem eine höhere Selektionsgenauigkeit. Deshalb lässt eine Selektion unter bewässerten Bedingungen einen höheren Selektionserfolg erwarten als eine Selektion unter Stressbedingungen und sollte rascher zu trockenintoleranten Genotypen führen (HARRER und UTZ 1990).

Danksagung

Die Autoren möchten sich herzlich bei den technischen Teams der KWS LOCHOW GmbH und der KWS LOCHOW POLSKA Sp. z o.o. für die hervorragende Unterstützung bei der Datenerhebung bedanken. Die diesem Bericht zugrundeliegenden Vorhaben wurden mit Mitteln des BM für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Förderkennzeichen 22013004) sowie des BM für Bildung und Forschung (Förderkennzeichen 0315445B) gefördert.

Literatur

- CATTIVELLI L, RIZZA F, BADECK F-W, MAZZUCOTELLI E, MASTRANGELO AM, FRANCA E, MARÈ C, TONDELLI A, STANCA AM, 2008: Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res* 105, 1-14.
- DWD, 2011: Drought conditions in Europe 2011. Issued by WMO RA VI Pilot RCC on Climate Monitoring, Lead Centre DWD. Deutscher Wetterdienst, Offenbach. (Available at: <http://www.dwd.de-Suche>)
- ECOPORT, 2002: *Secale cereale*. Plant, ID1929. EcoPort Foundation, Inc. (Available at: <http://ecoport.org/ep>)
- HARRER S, UTZ HF, 1990: Modellstudie zur Züchtung von Low-Input-Sorten am Beispiel des Mais. 41. Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter im Rahmen der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, 20-22 Nov, 9-19. BAL Gumpenstein, Irnding.
- HÜBNER M, WILDE P, SCHMIEDCHEN B, DOPIERALA P, GOWDA M, REIF JC, MIEDANER T, 2013: Hybrid rye performance under natural drought stress in Europe. *Theor Appl Genet*, in press. DOI: 10.1007/s00122-012-1994-4
- UTZ HF, 2010: PLABSTAT. Computerprogramm für statistische Analyse für Pflanzenzüchtungsversuche. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Stuttgart.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Genetische Variabilität von Sommergerste unter Trockenstress in einem Rain Out Shelter

Genetic variability of spring barley concerning resistance to drought stress under a rain out shelter

Gabriela Reichenberger^{1*}, Chris-Carolin Schön² und Markus Herz¹

Abstract

As tolerance against drought stress becomes more and more an important challenge for breeders, it is necessary to identify and validate methods to screen and select for resistance to drought stress in barley. For this purpose a collection of 74 spring barley accessions was tested for the variability of important physiological parameters as chlorophyll content in green leaves, canopy temperature, carbon isotope discrimination and different agronomic parameters as protein content, thousand kernel weight, yield etc. Under drought stress, simulated in a rain out shelter, genotypes show significant differences concerning most of these parameters. Stress was set at the heading of the plants. In a second trial the barley genotypes were chemically treated with a 5% potassium iodide solution to induce drought stress under the conditions of a breeder's nursery. The so called chemical desiccation is an easy and cost efficient way to simulate drought stress. In comparison with the data of the desiccation under the rain out shelter it is possible to show correlations between these two different experiments. For genetic studies a couple of SNP markers are used to assess polymorphism between the barley cultivars. At the end of the project an association mapping approach will be performed to identify correlations between the genotype and the phenotype under drought stress.

Keywords

Association study, carbon isotope discrimination, chemical desiccation, tensiometer

Einleitung

Durch die ständig wachsende Weltbevölkerung ist es notwendig, immer mehr Nahrungsmittel zu produzieren. Aufgrund der begrenzten Anbaufläche müssen die Erträge der bebauten Flächen gesteigert werden. Daraus folgt, dass Verlustquellen, die den Ertrag senken minimiert werden müssen.

Eine ernst zu nehmende Bedrohung stellt der Klimawandel dar. Die Sommer werden zunehmen wärmer und weniger Niederschlagsreich. Einen Vorgeschmack lieferte der

heiße Sommer 2003. Das Pflanzenwachstum war in diesem Sommer in Europa um rund ein Viertel reduziert. Der von Versicherungswirtschaftlern geschätzte durchschnittliche Wertverlust durch diese Dürreperiode liegt in Deutschland bei rund 1,3 Mrd. Euro. Dieser Verlust muss letztendlich von den Verbrauchern durch erhöhte Lebensmittelpreise getragen werden (BRONOLD et al. 2009).

Da Pflanzen zum Großteil aus Wasser bestehen, muss eine ausreichende Wasserversorgung gewährleistet sein. So enthält das Protoplasma im Durchschnitt 80-95% Wasser. Es ist verständlich, dass ein geregelter Stoffwechsel nur bei ausreichender Wasserversorgung ablaufen kann (STEU-BING und SCHWANTES 1987). Ist eine Pflanze nicht ausreichend mit Wasser versorgt und leidet dadurch unter Trockenstress, führt das zu schwerwiegenden Auswirkungen in verschiedensten Stoffwechselwegen. Die erste Reaktion von Pflanzen, Trockenstress entgegenzuwirken, besteht darin, die Stomata zu schließen um weiteren Wasserverlust durch Transpiration zu vermeiden. Infolge dessen kann kein Gasaustausch mehr stattfinden, was zu einer sinkenden CO₂-Assimilation und letztendlich aufgrund verminderter Photosyntheseleistung, Energieabgabe in Form von Wärme, Chlorophyllabbau und der Nichtbildung von Assimilaten zu reduziertem Pflanzenwachstum führt (RAGHAVENDRA und SAGE 2011).

Je nach Zeitpunkt des Trockenstresses (früh: vor der Blütezeit; spät: während und nach der Blütezeit) reagieren die Pflanzen auf unterschiedliche Art und Weise. Bei frühem Stress ist die effektivste Lösung den Stress zu umgehen die „phänologische Flucht“ (REYNOLDS et al. 2005). Dabei verkürzt die Pflanze die Wachstumsperiode und beginnt früher mit der Blütezeit. Bei spätem Stress ist es fraglich, ob die Pflanzen durch die Veränderung von *Ppd* und *Vrn* Allelen den Zeitpunkt des Ährenwachstums verzögern. Dies resultiert in phänologischen Veränderungen, die mit einer erhöhten Trockenstressgewöhnung einhergehen (REYNOLDS et al. 2005).

Um auf Trockenstress selektieren zu können müssen zunächst relevante Selektionsmerkmale identifiziert werden. Darunter fallen phänologische, morphologische und physiologische Eigenschaften der Pflanzen. Um diese Merkmale auch in großen Populationen erfassen zu können, sollten

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, am Gereuth 6, D-85354 FREISING

² Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, TU München, Emil-Ramann-Straße 4, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Gabriela REICHENBERGER, gabriela.reichenberger@lfl.bayern.de

die technischen Methoden einfach umzusetzen, schnell durchführbar und finanziell vertretbar sein. Diese Anforderungen gelten allgemein für alle Selektionsmerkmale. In der Pflanzenzüchtung wird bei der Selektion auf Trockenstress häufig nur auf ein Merkmal selektiert, da die Betrachtung mehrerer Merkmale oft sehr zeitaufwendig und kostenintensiv ist. Um effektiv auf Trockenstresstoleranz zu züchten ist die Beobachtung mehrerer Merkmale unabdingbar, da die Beobachtung eines einzelnen Merkmals keine zuverlässigen Ergebnisse liefert. Das kommt daher, dass sich die Merkmalsausprägung infolge von Wassermangel und je nach Stressintensität und -dauer, sowie dem Alter der Pflanze und unter anderen Umweltbedingungen ändert.

Verminderte Wasseraufnahme aus dem Boden führt auch zu verminderter Nährstoffaufnahme. Dabei lässt sich der N-Gehalt in den Pflanzen leicht durch sogenannte N-Tester wiedergeben. Durch eine Transmissionsmessung kann der Chlorophyllgehalt in grünen Blättern abgeschätzt werden. Über das Erlangen von Informationen über die Messmethodik, die phänotypische Reaktion der Pflanzen auf Trockenstress, sowie Informationen über die Genetik der Pflanzen soll es über Kreuzung und Selektion gelingen die Grundlage für leistungsfähige neue Sorten bereit zu stellen.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Feldversuche

Die vorliegende Studie an Sommergerste wurde in drei aufeinanderfolgenden Jahren von 2009 bis 2011 mit 57 bzw. 78 Sorten und Stämmen durchgeführt. Das Sortiment setzt sich aus Sorten unterschiedlichster Herkunft zusammen. Die meisten Sorten stammen aus Deutschland, darunter sind viele alte deutsche Sorten. Ein Großteil des Sortiments stammt aus Ländern mit trockenen und heißen Sommern. Weiter sind DH-Linien, einige Nacktgersten und Sorten und Stämme von bayerischen Züchtern ausgewählt worden (*Tabelle 1*).

Um einen Vergleich zwischen trockengestressten und nicht gestressten Pflanzen sicherzustellen wurde das gesamte Sortiment in verschiedenen Umwelten unter unterschiedlichen Bedingungen angebaut.

Tabelle 1: Herkünfte der im Testsortiment enthaltenen Sorten
Table 1: Origin of the tested cultivars

Herkunft	Anzahl	Beispiele
Deutschland, darunter alte Sorten	36	Power, Steina Urta
Von bayerischen Züchtern	13	Steward, Br8993a3
Länder mit heißen, trockenen Sommern	16	Mackay (AUS), Pamela Blue (ETH), Borema (BRA)
DHs aus Aspen×Arg. Mutante 6519	6	
Nacktgersten	5	Lotos, Lawina, Emperor
Standards (stressanfällig)	4 je Wh	Barke, Aspen

Tabelle 2: Beschreibung der Feldversuche

Table 2: Description of field trials (number of replications and varieties at each site/treatment)

Jahr	ROS		Kontrolle		Frankendorf		Strassmoos		Chemical Desiccation	
	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten
2009	3	78	2	72	2	78	2	78	2	40
2010	3	57	2	57	2	57	2	57	2	40
2011	3	78	2	78	2	78	2	78	2	78

Trockenstress wurde zum Einen unter natürlichen Bedingungen in einem Rain Out Shelter (ROS) simuliert, zum Anderen chemisch induziert. Bei dieser werden die Pflanzen unmittelbar nach dem Ährenschieben mit einer 5%igen Kaliumiodidlösung einmalig besprüht. Als Reaktion auf diese Behandlung schließen die Pflanzen ihre Stomata und nehmen kein weiteres Wasser aus dem Boden auf wodurch ein sogenannter chemischer Trockenstress induziert wird. Als unbehandelte Kontrolle wurde das Sortiment in unmittelbarer Nähe zum ROS (Kontrolle), in Frankendorf und in Strassmoos jeweils in zwei Wiederholungen angebaut. Die Wiederholungen wurden immer komplett randomisiert. In *Tabelle 2* sind die Anbauorte, die jeweiligen Wiederholungen pro Jahr und die Anzahl der Sorten dargestellt.

Die drei Vergleichsstandorte verfügen über unterschiedliche Bodeneigenschaften. Die Kontrolle verfügt über einen Boden, der es ermöglicht ausreichend Wasser zu speichern und zur Verfügung zu stellen. Strassmoos (StM) weist einen leichten, sandigen und sehr steinigen Boden auf. Dieser verfügt über eine schlechte Wasserspeicherkapazität. Frankendorf (FD) liegt im Erdinger Moos. Dieser Standort bietet einen schweren, humosen Boden mit hoher Wasserspeicherkapazität und ausgezeichneter Nährstoffversorgung. Der Boden auf dem das Rain Out Shelter errichtet ist besitzt eine hohe Wasserkapazität und verfügt über einen ausreichenden Nährstoffgehalt.

Rain Out Shelter

Das Rain Out Shelter (ROS, Rollgewächshaus) ist ein Foliengewächshaus, das mittels Rollen auf Schienen hin und her bewegt werden kann (*Abbildung 1*). Somit ist es möglich durch Sensoren das Haus bei Regen und starkem Wind über den Bestand zu fahren. Die Sensoren sind so programmiert, dass sich das Haus bei den ersten Regentropfen schließt bzw. über den Bestand fährt. Ebenso schließt sich das Haus bei einer Windgeschwindigkeit von $12\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ die Zeitdauer von 60 s anhalten muss.

Das Rollgewächshaus besitzt ein Eigengewicht von ca. 10 t und wird innerhalb von 180 s über den Bestand gefahren. Die Ausmaße des Hauses betragen $12\times 32\text{ m}$.



Abbildung 1: Rollgewächshaus (Rain Out Shelter)
Figure 1: Rain out shelter

Ergebnisse und Diskussion

Die Bodenfeuchte wurde mit Tensiometern gemessen. Diese wurden im ROS und in der unbehandelten Kontrolle nahe dem Rollgewächshaus in den Tiefen von 20, 40, 60, 80 und 100 cm installiert. Gemessen wurde drei Mal wöchentlich während der Vegetationsperiode.

Die Ergebnisse der Tensiometerauswertung sind in *Abbildung 2* dargestellt. Es wird repräsentativ nur die Tiefe von 60 cm dargestellt. Mit dargestellt ist die Bewässerung der Pflanzen zu Beginn der Vegetationsperiode. Tensiometerwerte werden in mbar angegeben. Aufgrund des gemessenen Unterdrucks sind diese Werte negativ. Liegt der Unterdruck zwischen -200 und -500 mbar wird von moderatem Trockenstress gesprochen. Ab einem Unterdruck von -500 mbar leiden Pflanzen unter sehr starkem Trockenstress. Wasser ist ab diesem Wert nur noch in Fein- und Feinstporen des Bodens enthalten und nicht mehr Pflanzenverfügbar. Dar-

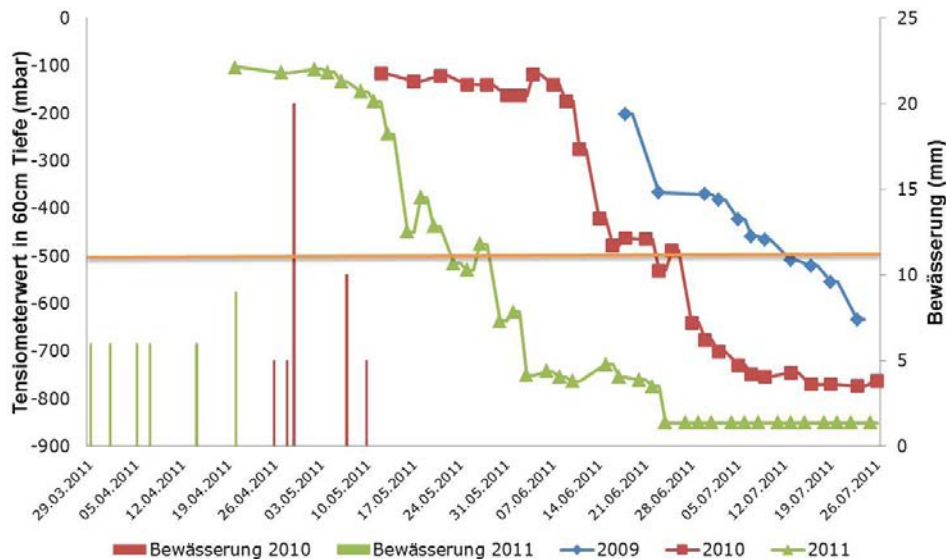


Abbildung 2: Tensiometerwerte in 60 cm Bodentiefe in den Jahren 2009 bis 2011 im ROS und Bewässerung in den einzelnen Jahren
Figure 2: Data of tensiometers in 60 cm soil depth in 2009, 2010 and 2011 in the ROS, and irrigation treatments in the three test years

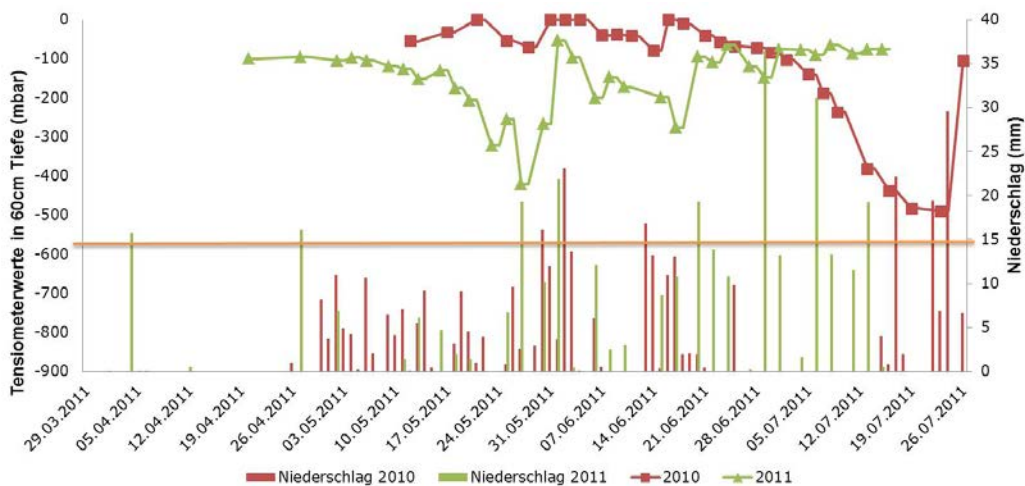


Abbildung 3: Tensiometerwerte in 60 cm Bodentiefe in den Jahren 2009 bis 2011 in der Kontrolle und Niederschläge während der Vegetationsperiode
Figure 3: Data of tensiometers in 60 cm soil depth in 2009, 2010 and 2011 in the the control environment, and precipitation during the growing period

gestellt ist dieser Wert durch die schwarze Linie in der *Abbildung*. In *Abbildung 2* ist die Verschiebung der Linien in den einzelnen Jahren deutlich zu erkennen. Es gelang jedes Jahr den Trockenstress zu einem früheren Zeitpunkt zu setzen. Ziel war es, zum Ährenschieben starken Trockenstress zu simulieren. Dies ist im Jahr 2009 nicht gelungen, da das Ährenschieben zwischen dem 4. und 20. Juni lag und starker Trockenstress erst ab 19. Juli gegeben war. Im Jahr 2010 gelang es bei einigen Sorten zum Ährenschieben Trockenstress zu erzeugen, da ab 21. Juni von starkem Trockenstress gesprochen werden kann und das Ährenschieben zwischen 9. und 28. Juni lag. Frühe Sorten hatten zum Ährenschieben noch keinen Stress. Dagegen gelang es im Jahr 2011 bei allen Sorten zum Ährenschieben starken Trockenstress zu erzeugen. Der Stresszeitpunkt konnte auf den 25. Mai gelegt werden während das Ährenschieben zwischen dem 23. Mai und dem 13. Juni lag.

Im Vergleich sind in *Abbildung 3* die Tensiometerwerte und Niederschläge in der Kontrolle dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Pflanzen über die gesamte Vegetationsperiode hinweg ausreichend mit Wasser versorgt waren. Ausgenommen einer ausgeprägten Trockenperiode im Jahr 2010 von Ende Juni bis Mitte Juli. Diese führte in Verbindung mit sehr hohen Temperaturen zu einer rapiden Austrocknung des zuvor mehr als ausreichend mit Wasser gesättigten Bodens.

Die Reaktion der Pflanzen auf die extremen Bedingungen im Jahr 2010 ist in *Abbildung 4* deutlich erkennbar. Abgebildet sind die SPAD Werte (Minolta SPAD-502 Chlorophyllmeter) gemittelt über alle Sorten an den jeweiligen Standorten im Verlauf eines Jahres.

Die Witterungsverhältnisse im Jahr 2010 führten dazu, dass die SPAD-Werte der Kontrolle deutlich niedriger sind als im ROS. Erkennbar ist dies bereits ab Ende Mai. Die starken Regenfälle in diesem Jahr wirken sich ebenso wie eine ausgeprägte Trockenheit auf den Chlorophyllgehalt der Pflanzen aus. Die chemisch behandelten Pflanzen reagieren

unmittelbar nach der Behandlung mit einem deutlichen Chlorophyllabbau. Dies ist auch im Jahr 2011 deutlich zu sehen. In diesem Jahr verhalten sich die Pflanzen der Kontrolle und des ROS erwartungsgemäß. Die Werte im ROS liegen deutlich unter den Werten der unbehandelten Kontrolle. Betrachtet man einzelne Sorten spiegelt sich dieses Bild wieder. Im Jahr 2011 nimmt die Zahl von Sorten zu, deren SPAD-Werte von ROS und chemischem Versuch vergleichbar sind. Dies spräche dafür, dass die *chemical desiccation* durchaus eine plausible Methode ist, um Trockenstress zu simulieren.

Jedoch müssen diese Ergebnisse noch bestätigt werden. Es scheint, als würden der Sorteneinfluss und die Witterung eine ausschlaggebende Rolle spielen. Deutliche Unterschiede zwischen gestressten und nicht gestressten Pflanzen sind auch in *Abbildung 5* zu sehen.

Dargestellt sind die Unterschiede zwischen den Pflanzen im ROS und den Pflanzen in den unbehandelten Kontrollen. Jede Spalte repräsentiert eine Sorte. Blau bedeutet, dass der Wert im ROS ist höher als am jeweiligen Kontrollstandort.

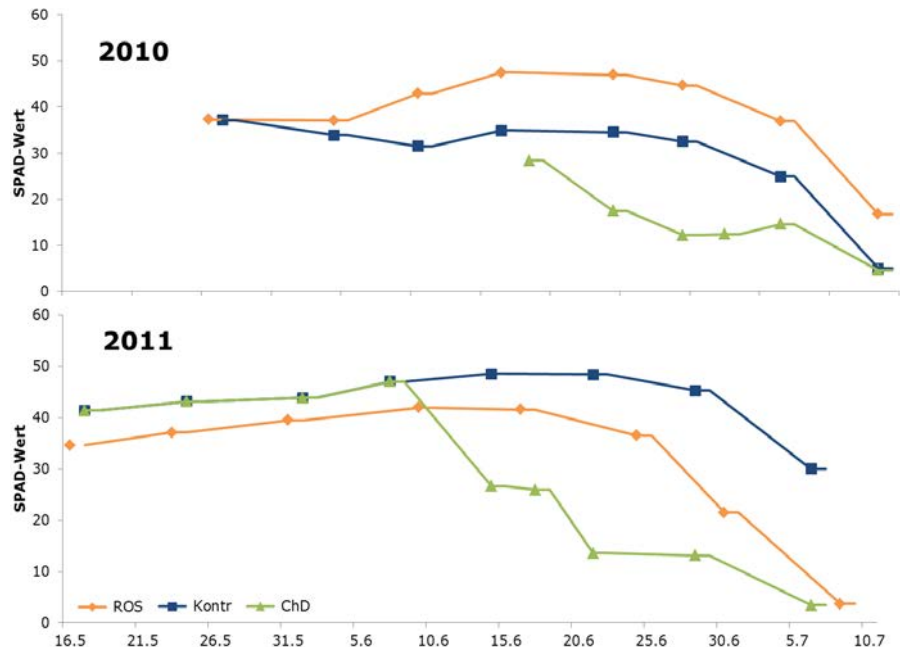


Abbildung 4: SPAD Mittelwerte über alle Sorten im ROS, der Kontrolle und der chemisch gestressten Variante im Verlauf der Vegetationsperiode (dargestellt sind die Jahre 2010 und 2011)

Figure 4: Mean SPAD measurements over all varieties in the ROS, the control and chemical desiccated variant (data are shown for 2010 and 2011)

Tabelle 3: Sorten- und Standortunterschiede an den jeweiligen Standorten bei ausgewählten Merkmalen

Table 3: Differences of environments and varieties with regard to different parameters

Merkmal ¹	Sorte					Sorte×Ort	
	σ ² ROS	σ ² FD	σ ² K	σ ² StM	σ ² ChD	σ ²	
ÄS	**	**	**	**	**	**	**
PH	**	**	**	**	**	**	*
TKG	**	*	**	**	**	**	**
SPAD	*	*	**	**	*	n.s.	*
PROT	**	**	**	**	**	**	**

¹ ÄS, Ährenschieben; PH, Wuchshöhe; TKG, 1000 Korngewicht; PROT, Proteingehalt; **, signifikant bei $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; n.s., nicht signifikant

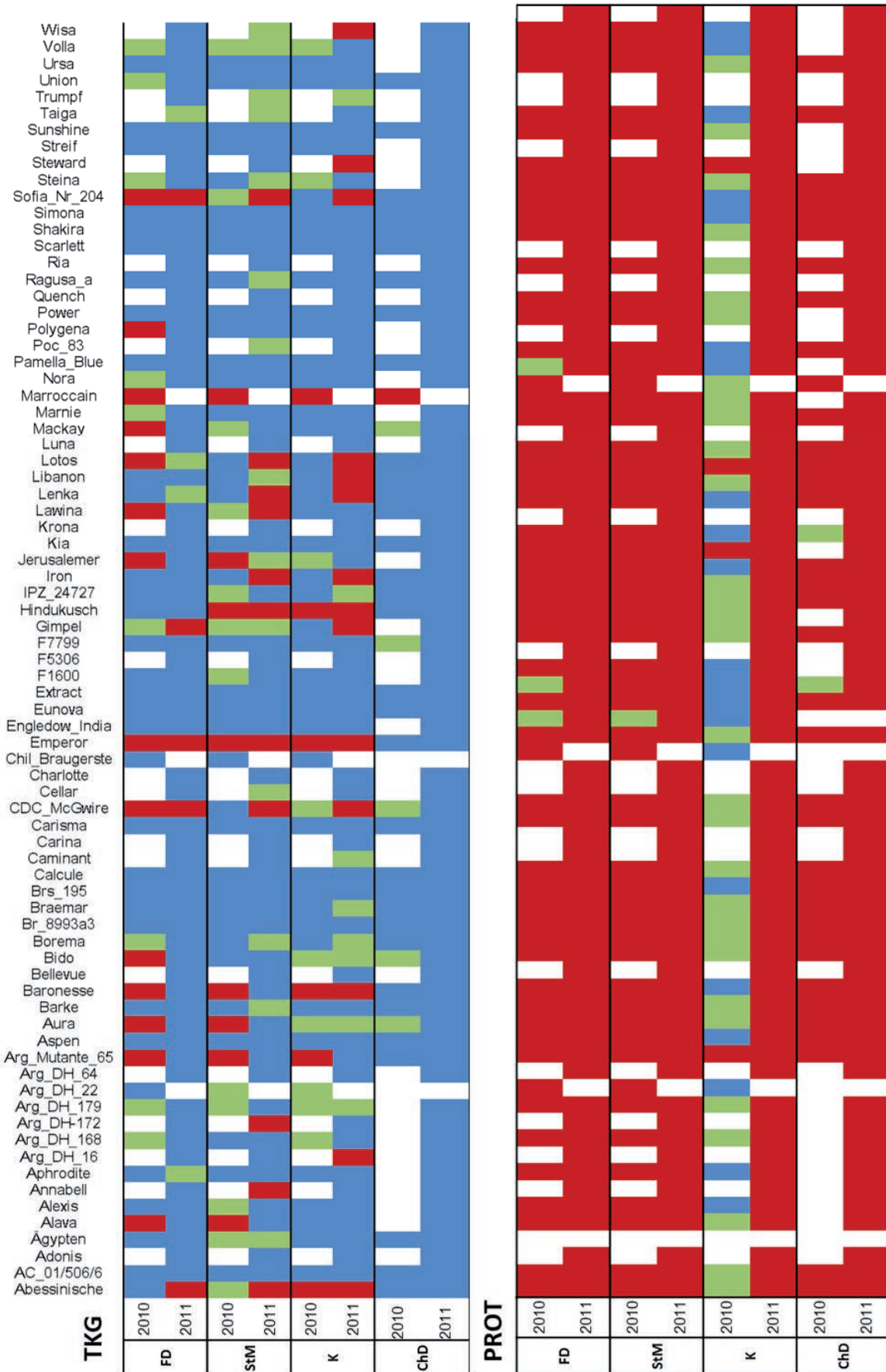


Abbildung 5: Qualitative Unterschiede von Tausendkorngewicht (TKG) und Proteingehalt im Korn (PROT) zwischen den Pflanzen im ROS und den Kontrollstandorten. Jede Spalte repräsentiert eine Sorte; blau: Wert im ROS höher; rot: Wert im ROS niedriger; grün: Werte im ROS gleich.

Figure 5: Qualitative differences of 1000 kernel weight (TKG) and protein content (PROT) between plants in the ROS and control environments. Each column represents one variety; blue: value in ROS higher; red: value in ROS lower; green: value in ROS similar.

Rot bedeutet, der Wert ist niedriger. Grün bedeutet, die Werte sind ähnlich. Es wird deutlich, dass das Tausendkorngewicht im ROS bei nahezu allen dargestellten Sorten höher ist als an den Kontrollstandorten. Im Gegensatz dazu sinken die Proteingehalte unter Trockenstress. Mit Ausnahme der Pflanzen in der Kontrolle 2010. Dies ist wie aus den Tensiometerwerten hervorgeht auf die nachteiligen Witterungsbedingungen zurückzuführen.

Die ersten statistischen Ergebnisse sind in folgender Tabelle aufgeführt. In *Tabelle 3* wird deutlich, dass an allen Standorten signifikante Sortenunterschiede erkennbar sind. Einzig die SPAD-Werte beim chemischen Versuch zeigen keine signifikanten Sortenunterschiede. Alle Sorten reagierten somit in gleicher Weise auf die Behandlung mit Kaliumiodid. Das wird in weiteren Auswertungen noch genauer untersucht.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Studie sind ermutigend für die weitere statistische Auswertung. Es sind deutliche Unterschiede bei einzelnen Merkmalen zwischen gestressten und nicht gestressten Pflanzen erkennbar. Das Jahr 2010 mit dem aufgetretenem Trockenstress in der Kontrolle stellt eine sehr gute Vergleichsmöglichkeit für den Versuch im Rain Out Shelter dar. Der Stress in dieser Kontrolle wurde nicht kontinuierlich herbeigeführt, sondern trat plötzlich auf. Die Pflanzen im Rollgewächshaus dagegen können sich kontinuierlich an den austrocknenden Boden gewöhnen. Daher vermutlich auch die besseren Werte bei vielen Parametern. Für eine umfassende statistische Auswertung sind ausreichend Daten vorhanden. Diese Daten werden in einer Assoziationsstudie unter Einbeziehung der Daten aus dem Jahr 2012 mit ca.

3500 SNP-Markern verrechnet, um trockenstressrelevante Genomregionen ausfindig zu machen. Um zu einer soliden Bewertung der Anwendbarkeit der einzelnen Messmethoden zu kommen, bedarf es weiterer experimenteller Ergebnisse zur Absicherung der Ergebnisse. Dies wird im Zuge der abschließenden Assoziationsstudie erfolgen.

Danksagung

Diese Studie wurde in enger Zusammenarbeit zwischen den Autoren und Volker Mohler, Günther Schweizer, und der AG Gerstenzüchtung an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft sowie Prof. Urs Schmidhalter, Lehrstuhl für Pflanzenernährung, TUM Wissenschaftszentrum Weihenstephan durchgeführt. Die finanzielle Förderung erfolgte mit Mitteln des Bayerischen Staatsministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten.

Literatur

- RAGHAVENDRA AS, SAGE R, 2011: C₄ photosynthesis and related CO₂ concentrating mechanisms. *Advances in Photosynthesis and Respiration* 32. Springer Science+Business Media BV.
- BRONOLD B, HAVERKAMP S, MAYER-BOSSE A, SCHWARZ H, 2009: SystemAgro: Nachhaltige Ernteversicherung als Antwort auf den Klimawandel. *MUNICH RE Special and Financial Risks SFR Agro*.
- REYNOLDS MP, MUJEEB-KAZI A, SAWKINS M, 2005: Prospects for utilising plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environments. *Ann Appl Biol* 146, 239-259.
- STEUBING L, SCHWANTES HO, 1987: *Ökologische Botanik: Einführung in die angewandte Botanik*. UTB, Stuttgart.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Durum in a changing climate - drought stress during growing seasons in Syria

Manuela Nagel^{1*}, Sheeba Navakode¹, Miloudi Nachit²,
Michael Baum², Marion S. Röder¹ and Andreas Börner¹

Abstract

Durum wheat is mainly produced under rainfed but often sub-optimal moisture conditions in the Mediterranean basin. In the current study, a mapping population (drought×salt tolerant cultivar) was developed and the progeny examined for their ability to cope with moisture limiting conditions in Syria in two growing seasons. At the beginning of the second growing season, extreme reduced precipitation resulted in an extension of the days to heading and maturity and lead to a highly significant depletion in plant height, yield, harvest index and thousand grain weight. Quantitative trait loci (QTL) analyses revealed 15 highly significant QTL on chromosomes 1B, 2A, 2B, 3A, 4A, 4B, 5A, 5B, 7A and 7B. For grain yield in total five different QTL were found for the two growing seasons. In contrast, highly significant QTL for plant height (LOD=27) appeared on chromosome 4B in both growing seasons and explained a phenotypic variance up to 65%. Summarising, QTL for drought tolerance under 'natural' appearing moisture limiting conditions could be detected in durum wheat. However, strong interactions between genetic and environmental factors will challenge breeding programmes on drought stress for the future.

Keywords

Grain weight, grain yield, plant height, QTL, recombinant inbred lines, *Triticum durum*

Introduction

Durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*), a tetraploid grass, originated in the Fertile Crescent (an area including Iraq, Iran, Eastern Turkey, Syria, Jordan, Israel, Lebanon and the West Bank) and has been farmed in this region for the last 12 000 years (HABASH et al. 2009). Nowadays, more than 34 million tons are produced globally every year which are 6% of the world wheat production. The cultivation area concentrates mainly in the EU (25%), Middle East (19%), North Africa (11%), Canada (11%), Kazakhstan (8%), USA (7%) and Australia (2%). Compared with bread wheat (*Triticum aestivum* L.) durum wheat has a harder endosperm which produces a granular product after milling. This gra-

nule, called semolina, is the basis ingredient to make pasta, bread, couscous, frekeh and bulgur (CONNELL et al. 2004).

Premium durum wheat quality is cultivated in the Mediterranean basin although environmental constraints as drought and temperature extremes limit the productivity ranging from 0 to 6 t·ha⁻¹ (NACHIT and ELOUAFI 2004, HABASH et al. 2009, CECCARELLI et al. 2010). According to climate models there is a general trend that the Mediterranean basin will become hotter (+3 to +5°C) and drier (-20% precipitation) over the next century. These changes in seasonal precipitation and the occurrence of moisture and temperature stress during different developmental stages will have negative impacts on durum wheat production (HABASH et al. 2009).

Plants react on drought stress with a variety of physiological and biochemical responses which are usually initiated by stomatal closure. This protection mechanism influences CO₂ assimilation by leaves and results in membrane damages and enzyme disorder, especially those of CO₂ fixation. The enhanced metabolite flux through photo-respiratory pathway increases the oxidative load and generates reactive oxygen species which will cause further damages to macromolecules. However, plants are able to withstand drought stress by a range of protection mechanisms including reduced water loss by increased diffusive resistance, enhanced water uptake with prolific and deep root systems and its efficient use. Additional transpirational loss can be avoided by smaller and succulent leaves. Polyamines and several enzymes act as antioxidants and reduce the adverse effects of water deficit. At molecular levels several drought-responsive genes and transcription factors have been identified, such as the dehydration-responsive element-binding gene, aquaporin, late embryogenesis abundant proteins and dehydrins (FA-ROOQ et al. 2009, JALEEL et al. 2009).

By adopting different strategies, as mass screening and breeding and marker-assisted selection, drought stress tolerance in plants can be improved. The current study focuses on the detection of genetic regions which might be responsible for drought tolerance in durum wheat. Therefore the RIL population Omrabi5×Belikh2 was cultivated under moisture limiting conditions in Syria in two growing seasons. Results were quantitatively analysed and gave new insights into genetics of abiotic stress tolerance.

¹ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK Gatersleben), Corrensstraße 3, 06466 Stadt Seeland, Germany

² International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), PO Box 5466, Aleppo, Syria

* Corresponding author: Manuela NAGEL, Nagel@ipk-gatersleben.de

Material and methods

Plant material

A set of 114 recombinant inbred lines (RILs) from a cross between the durum wheat lines (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) ‘Omrabi 5’ (drought tolerant) and ‘Belikh 2’ (salt tolerant) was developed at the International Centre for Agricultural Research in the Dry Area (ICARDA), Syria. The RILs are genotyped with 265 microsatellite markers which have an average marker distance of 10.8 cM and cover the A genome with 1,423 cM (49.6%) and the B genome with 1,441 cM (50.3%).

Phenotyping

RILs were cultivated at the ICARDA experimental fields in Syria in 2007/08 and 2008/09. Phenological data as days to heading, days to maturity, plant height (cm), straw yield, grain yield, total yield (kg-plot⁻¹), harvest index (HI) and thousand grain weight (TGW, g) were collected during the growing seasons.

QTL analysis

The quantitative trait loci (QTL) analysis was carried out by composite interval mapping using the program QTL Cartographer V2.5 (WANG et al. 2011) with model 6 of forward regression. To control the effects of genetic background, five markers were used as cofactors with a window size of 5.0 cM. A LOD (logarithm of odds) score of 3.0 was used for calculating QTL positions and declare significant QTL ($P < 0.001$). The explained phenotypic variance (R^2) and the additive effect for each QTL as well as the position were estimated with QTL cartographer.

Results and discussion

Syria is an arid and semi-arid country with limited water resources. Between 2006 and 2009 Syria experienced a serious drought, the worst in four decades. Generally, for the Mediterranean basin, drought ranks among the most important abiotic stresses. Therefore, breeding has been focused in drought adaptation of crops by improvement of water use efficiency (NACHIT and ELOUAFI 2004, TUBEROSA et al. 2007) using ‘molecularly’ informed breeding approaches as marker-assisted selection based on information of QTL (TUBEROSA and SALVI 2006, TUBEROSA et al. 2007, DIAB et al. 2008)

The current experiments were carried out in two years with reduced precipitation in Syria. Both years differed additionally in the precipitation pattern which influenced significantly plant productivity. Comparing average yields between growing season 2007/08 and 2008/09 the results show strong reductions in grain, straw and total yield including significant effects on HI in growing season 2008/09. Due to the long dry period from previous years and additional 100 consecutive days of no observed precipitation in summer 2008, plants suffered moisture stress and restricted growth after planting in November 2008. This is reflected by the increased days to heading (22 more days) and maturity (37 more days) and results in a reduction of plant height (-10%), grain yield (-45%), HI (11%) and TGW (-14%) (Table 1).

The growth conditions during the two periods were beneficial to find relevant QTL for drought tolerance in durum wheat. In total 15 highly significant QTL were found on 10 chromosomes.

Positive alleles in grain yield, plant height and HI were contributed by the drought tolerant parent ‘Omrabi 5’, whereas positive alleles in days to heading and maturity and TGW came from the salt tolerant parent ‘Belikh 2’ (Table 2). On chromosome 4A and 7B, QTL for grain yield have been already found in comparable regions with seed parameters (seed length, width) and osmotic stress (normal seedlings and root length), respectively (NAGEL et al., unpublished). The most significant QTL, explaining a phenotypic variation up to 65%, is presented for plant height on chromosome 4B. The associated markers are also linked with coleoptile length after osmotic stress (NAGEL et al., unpublished) and are in comparable regions to the reduced height (*Rht*) genes on chromosomes 4B and 4D of the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome (BÖRNER et al. 1997). Interestingly, semi-dwarf cultivars carrying *Rht-B1b* or *Rht-D1b* alleles showed reduced stand establishment and lower yield after abiotic stress which is attributed to a reduced initial seed vigour (BOTWRIGHT et al. 2001, REBETZKE et al. 2001). Drought is one of the most complex abiotic stresses and breeding is complicated by the lack of fast, reproducible phenotyping and repeatable water stress conditions (COLLINS et al. 2008, REZA et al. 2009). In the current study a RIL population could be tested under ‘natural’ drought stress condition and resulted in valuable genetic information of quantitative trait yield. The appearance of different QTL in different growing season indicates a strong dependability of environmental factors which will challenge the marker-assisted selection in durum wheat breeding in future.

Table 1: Average performance of 114 RILs at the ICARDA experimental fields in two seasons

Traits	Season 2007/08			Season 2008/09		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Days to heading	96.80	91.00	111.00	128.89	121.05	143.05
Days to maturity	140.11	136.00	156.00	177.09	161.68	199.98
Plant height (cm)	73.91	52.55	100.05	66.39	40.73	91.59
Grain yield (kg-plot ⁻¹)	1.66	0.58	2.81	0.89	0.39	1.66
Straw yield (kg-plot ⁻¹)	3.80	0.88	7.34	2.41	1.17	4.54
Total yield (kg-plot ⁻¹)	5.47	1.46	9.62	3.30	1.65	5.44
HI (%)	30.66	20.60	39.58	27.25	14.41	49.27
TGW (g)	43.67	29.81	61.18	37.39	25.32	53.48

Table 2: Quantitative trait loci (QTL) detected by composite interval mapping of the RIL population Omrabi 5×Belikh 2. A QTL was assigned when LOD was >3 and defined by the chromosome (Chr.), markerloci, position, explained phenotypic variance (R^2) and additive effects. Positive additive effects indicate a contribution by the parent ‘Omrabi 5’, negative additive effects by the parent ‘Belikh2’.

Trait	Season	Chr.	Markerloci	LOD	R^2	Additive effects
Days to Heading	1	2A	<i>Xwmc177</i>	3.68	0.12	1.53
	1	2B	<i>Xwmc597</i>	3.77	0.09	-1.30
	2	2B	<i>Xgwm410</i>	5.18	0.13	-1.99
Days to Maturity	1	5A	<i>Xbarc197</i>	3.13	0.09	-1.29
	1	7A	<i>Xgwm1065</i>	4.99	0.17	-1.83
	2	2A	<i>Xwmc177</i>	4.32	0.11	2.70
	2	5B	<i>Xgwm1016</i>	4.94	0.13	-2.99
Plant Height	1	4B	<i>Xbarc193</i>	27.45	0.65	10.21
	2	4B	<i>Xbarc193</i>	21.36	0.56	9.16
Grain Yield	1	1B	<i>Xgwm752</i>	3.45	0.11	152.86
	1	2B	<i>Xgwm47</i>	3.42	0.11	153.63
	2	3A	<i>Xgwm674</i>	4.03	0.13	94.35
	2	4A	<i>Xgwm160</i>	6.01	0.18	104.30
	2	7B	<i>Xwmc426</i>	3.48	0.12	87.04
Harvest Index	1	2B	<i>Xgwm148</i>	3.49	0.11	1.32
	2	5B	<i>Xbarc4</i>	3.02	0.10	1.53
TGW	1	2A	<i>Xgwm425</i>	3.09	0.09	-1.82

Acknowledgments

We kindly acknowledge Mohamed Azrak, Hani Hazzam, Ahmed Alsaleh and Saer Dawer for the field and lab work and thank GIZ for financial support (Project No. 07.7860.5-001.00).

References

- BÖRNERA, RÖDERM, KORZUN V, 1997: Comparative molecular mapping of GA insensitive *Rht* loci on chromosomes 4B and 4D of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 95, 1133-1137.
- BOTWRIGHT TL, REBETZKE GJ, CONDON AG, RICHARDS RA, 2001: Influence of variety, seed position and seed source on screening for coleoptile length in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 119, 349-356.
- CECCARELLI S, GRANDO S, MAATOUGUI M, MICHAEL M, SLASH M, HAGHPARAST R, RAHMANIAN M, TAHERI A, AL-YASSIN A, BENBELKACEM A, LABDI M, MIMOUN H, NACHIT M, 2010: Plant breeding and climate changes. *J Agric Sci* 148, 627-637.
- COLLINS NC, TARDIEU F, TUBEROSA R, 2008: Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiol* 147, 469-486.
- CONNELL P, LAWRENCE L, NELSON R, 2004: Durum wheat - Australia's role in world markets. *Australian Commodities* 11, 319-324.
- DIAB AA, KANTETY RV, OZTURK NZ, BENSCHER D, NACHIT MM, SORRELLS ME, 2008: Drought - inducible genes and differentially expressed sequence tags associated with components of drought tolerance in durum wheat. *Scientific Research and Essays* 3, 9-26.
- FAROOQ M, WAHID A, KOBAYASHI N, 2009: Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron Sustain Dev* 29, 185-212.
- HABASH DZ, KEHEL Z, NACHIT M, 2009: Genomic approaches for designing durum wheat ready for climate change with a focus on drought. *J Exp Bot* 60, 2805-2815.
- JALEEL CA, MANIVANNAN P, WAHID A, FAROOQ M, AL-JUBURI HJ, SOMASUNDARAM R, PANNEERSELVAM R, 2009: Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *Int J Agric Biol* 11, 100-105.
- NACHIT M, ELOUAFI I, 2004: Durum adaptation in the Mediterranean Dryland: breeding, stress physiology, and molecular markers. *Crop Sci* 32, 203-218.
- REBETZKE GJ, APPELS R, MORRISON AD, RICHARDS RA, MCDONALD G, ELLIS MH, SPIELMEYER W, BONNETT DG, 2001: Quantitative trait loci on chromosome 4B for coleoptile length and early vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Aust J Agric Res* 52, 1221-1234.
- REZA T, FAYAZ F, NAJI AM, 2009: Effective selection criteria for assessing drought stress tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Gen Appl Plant Physiol* 35, 64-74.
- TUBEROSA R, GIULIANI S, PARRY MAJ, ARAUS JL, 2007: Improving water use efficiency in Mediterranean agriculture: what limits the adoption of new technologies? *Ann Appl Biol* 150, 157-162.
- TUBEROSA R, SALVI S, 2006: Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. *Trend Plant Sci* 11, 405-412.
- WANG S, BASTEN CJ, ZENG Z-B, 2011: Windows QTL Cartographer 2.5, Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>).

Praktische Anwendbarkeit von Trockenstressparametern für die Weizenzüchtung

Practical applicability of drought stress parameters for winter wheat breeding

Clemens Flamm^{1*}, Sabrina Scheriau¹, Elisabeth Zechner², Maren Livaja³ und János Pauk⁴

Abstract

In order to incorporate a drought stress parameter in wheat breeding, this parameter should fulfill following requirements: (i) applicable with little input for a wide assortment, (ii) reproducible over different environments, and (iii) validity for the character drought stress. The measurements of root capacity, stomatal conductance, osmotic potential and flag leaf temperature do not meet the first simple application requirement. The parameters of the 'escape strategy' and chlorophyll content are quickly testable and can be reproduced well in different locations. Leaf rolling, plant height and yield parameters correlate closely over locations. A good correlation between the investigated parameters and yield under drought conditions was found except for leaf rolling and plant height.

Furthermore, it was shown that awns are not responsible for the drought tolerance of a variety. A principle component analysis over all drought stressed locations revealed that a combination of the parameters test weight, plant height and leaf senescence contribute to grain yield losses under drought stress. Further analysis of irrigated and non-irrigated Austrian trials in 2012 obtained two significant principal components which are correlated to yield components determined in the period from heading and flowering to ripening, respectively.

Summarizing, the parameters heading, ripening, grain filling period, leaf senescence and chlorophyll content are most likely suitable to identify drought tolerant genotypes. Leaf rolling and appearance of awns gave little information about drought tolerance. Other tested parameters are too time consuming or difficult to reproduce.

Keywords

Chlorophyll content, drought avoidance, drought tolerance, escape strategy, leaf rolling, reproducibility, *Triticum aestivum*

Einleitung

Trockenstress und dessen Effekt auf die Pflanzen ist weltweit einer der wichtigsten Begrenzungsfaktoren der Maximierung der Weizenproduktion (JONES und CORLETT 1992). Pflanzen reagieren auf Wasserdefizit mit physiologischen, biochemischen und molekularen Veränderungen. Diese Anpassungen unterliegen sehr komplexen und unterschiedlichen Mechanismen (HALL 2001, CHAVES et al. 2003, JONES 2004). LEVITT (1972) entwickelte eine Einteilung der Mechanismen, die nach wie vor Gültigkeit besitzt: (1) Dürrefluht (*escape strategy*), (2) Vermeidung der Austrocknung (*avoidance*) und (3) Toleranz gegenüber dem Austrocknen (*tolerance*).

Die erste Strategie ist durch eine schnellere Pflanzenentwicklung charakterisiert. Durch eine frühere Reife versucht die Pflanze, einer späteren Dürrephase zu entkommen. Das Stadium des Ährenschiebens, die Blüte und Gelbreife werden rascher erreicht. Dies geht einher mit einer höheren Wachstumsrate aber kürzeren Wachstumszeit und einem höheren Gasaustausch, wodurch die Blattsenescenz früher erfolgt.

Die Austrocknung kann einerseits durch Senkung des Wasserverbrauches vermieden werden. Dies ist durch Reduktion der Transpirationsrate, einer dickeren Wachsschicht, einer Verringerung der Blattoberfläche (SALIH et al. 1999) sowie durch Reduktion der stomatären Leitfähigkeit (LUDLOW und MUCHOW 1990, RAY und SINCLAIR 1997) möglich. Andererseits ist auch eine verbesserte Wassernutzung erfolgreich. Dies wird beispielsweise durch höheres Wurzelwachstum erreicht (SALIH et al. 1999).

Eine weitere Reaktion ist die Austrocknungstoleranz. Pflanzen können lang anhaltende Perioden von Trockenstress mittels osmotischer Anpassung besser überdauern. Dabei wird der Turgor in den Zellen möglichst lange aufrechterhalten. Die Pflanzen werden zwar gestresst, behalten aber noch eine gewisse Produktivität.

Für alle beschriebenen Mechanismen und Strategien gibt es Möglichkeiten, diese zu messen oder zu schätzen. In

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

² Saatucht Edelfhof, Edelfhof 1, A-3910 ZWETTL

³ Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Emil Ramann Straße 4, D-85354 FREISING

⁴ Cereal Research Non-Profit Company, Department of Biotechnology, P.O. Box 391, H-6701 SZEGED

* Ansprechpartner: Clemens FLAMM, clemens.flamm@ages.at

der folgenden Arbeit soll die praktische Durchführbarkeit ausgewählter Methoden sowie deren Aussagekraft bezüglich Trockenstress aufgezeigt werden.

Material und Methoden

Es wurden Versuche der Jahre 2010-2012 aus den Cornet-Projekten *Wheat Stress* und *Efficient Wheat* analysiert. Die Versuche lagen in Deutschland, Österreich und Ungarn. An drei Standorten wurden die Versuche in einer beregneten und einer unberegneten Variante ausgeführt. Aufgrund der natürlichen Regenverteilung wurden die Versuche in trocken und feucht eingeteilt (Tabelle 1).

Im Jahr 2010 erhielten die beregneten Versuche 40-58 mm zusätzliches Wasser (Österreich) bzw. 10 mm (Ungarn); 2011 wurden 80-90 mm (Österreich) bzw. 44 mm (Ungarn) sowie 2012 60-80 mm in Österreich beregnet. Die einbezogenen Sorten wurden von deutschen, österreichischen und ungarischen Züchtern ausgewählt und zeigten eine große Variabilität hinsichtlich Wuchshöhe, Abreife und Qualitätseigenschaften.

Das Testsortiment wurde entsprechend der Österreichischen Beschreibenden Sortenliste (AGES 2013) bzw. dem österreichischen Backqualitätsschema 1994 (OBERFORSTER et al. 1994) in drei Backqualitätsgruppen (Qualitätsweizen, Mahlweizen und Futterweizen) eingeteilt. Die Sorten 'Bitop', 'Capo', 'Element', 'Exklusiv', 'Komarom', 'Midas', 'GK Békés', 'GK Kalász' und 'GK Petur' wurden den Qualitätsweizen zugeordnet. Die Sorten 'Eurofit', 'Eurojet', 'Tacitus', 'Brilliant', 'Hybred', 'JB Asano', 'Pegassos', 'Premio', 'Tiger', 'GK Fény', 'GK Hunyad', 'GK Rába' und 'GK Szala' entsprechen der Mahlweizengruppe. Bei den Sorten 'Hyland' und 'Robigus' handelt es sich um Futterweizen.

Die Versuche wurden als Gitteranlagen mit drei Wiederholungen angebaut. Die Düngung erfolgte ortsüblich. Folgende Merkmale wurden erhoben: Kornertrag (KOEQ, dt·ha⁻¹), Datum Ährenschieben, Blüte und Gelbreife (DTAE, DTBL, DTGR; Tage nach 31. Dezember), Tage zwischen diesen Stadien (GRAE (Einkörnungsdauer), GRBL und BLAE), Fahnenblattseneszenz (SZF1-3; Schätzung in % zu 3 Terminen), Wuchshöhe (WHOE, cm), Bestandesdichte (BEST, Ähren·m⁻²), Tausendkorngewicht (TKG, g bei 86% TS), Kornzahl pro Ähre (KZAE), Kornzahl pro m² (KZM2), Ährgewicht (AEGW, g) und Hektolitergewicht (HLGW, kg). Weiters wurden das Blattrollen (BLRO, Schätzung, %), die elektrische Leitfähigkeit der Wurzeln (EKA, mittels 3 Escort ELC 133A LCR meter, nF), das osmotische Potenzial (OSP, Osmometer Vapro 5520, MPa), die Oberflächentemperatur des Fahnenblattes (OTEM, Infrarot Thermometer, Scan Temp 490 Dostmann Electronic GmbH, °C), der

Chlorophyllgehalt des Fahnenblattes (SPD1-3, SPAD-502 Konica Minolta, SPAD-Einheiten zu 3 Terminen) und die Leitfähigkeit der Spaltöffnungen (STO2-3; Leaf Porometer, Decagon Devices, mmol·m⁻²·s⁻¹ zu 2 Terminen) erhoben.

Die statistische Verrechnung erfolgte mit SPSS. In die Varianzanalyse wurden die Versuche 2010-2011 einbezogen, da von 2012 nur die Daten der österreichischen Prüfungen vorlagen. Die weiterführenden Analysen wurden mit der Statistiksoftware R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2012) durchgeführt. Hierfür wurden nur mehr die trocken-gestressten Versuche verwendet bzw. jene Standorte, an denen beide Varianten vorkamen (beregnet und unberegnet) und bei denen es Unterschiede zwischen diesen Varianten gab (Tat und NWe).

Aufgrund der Vielzahl der zu untersuchenden Parameter wurde neben der Varianzanalyse eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Mittels Hauptkomponentenanalyse sollen Korrelationen in diesen erhobenen Parametern erkannt werden, um somit diese Parameter ohne Informationsverlust auf wenige Hauptkomponenten reduzieren zu können. Die erhaltenen Hauptkomponenten ergeben sich als Linearkombinationen der ursprünglichen Parameter (TABACHNICK und FIDELL 2007).

In weiterer Folge lässt sich der Einfluss der Hauptkomponenten auf den Trockenstress modellieren. Dazu wurden gemischte lineare Modelle berechnet. In linearen gemischten Modellen werden die fixen Effekte (die bereits im klassischen linearen Regressionsmodell herangezogen werden) um sogenannte zufällige Effekte erweitert. Die fixen Effekte beschreiben den Einfluss von Prädiktorvariablen auf eine Zielvariable für die Gesamtpopulation. Mit zufälligen Effekten soll ein gegebenenfalls abweichendes Verhalten von bestimmten Clustern abgebildet werden (WEST et al. 2007). In den vorliegenden Analysen wurden die Cluster Sorte, Jahr und Ort als zufällige Effekte modelliert. Eine wichtige Information zu zufälligen Effekten liefert deren Varianzkomponente. Mit dieser kann ermittelt werden, welcher Anteil der Gesamtvarianz der Daten auf den jeweiligen Cluster (zufälligen Effekt) entfällt. Je größer der Anteil, desto größer ist die clusterspezifische Variation.

Ergebnisse und Diskussion

Praktische Durchführbarkeit

Parameter der „Dürreflucht“ (Ährenschieben, Gelbreife, Einkörnung, Blattseneszenz) sind einfach festzustellen und relativ rasch zu erheben. In ähnlicher Weise gehen die Parameter zur Vermeidung des Austrocknens wie das Blattrollen und die Begrannung.

Tabelle 1: Versuchsstandorte in Deutschland, Österreich und Ungarn (2010-2012)

Table 1: Test locations in Austria, Germany and Hungary (2010-2012)

Klima	2010	2011	2012
Feucht	Fel ¹ , Rog, Sel, Söl, Uff, Bre (u,b), Tat (b), StA, Kis, Sze (u,b)	Fel, Rog, Sel, Söl, Bre (b), Tat (b), Sze (b)	NWe (b), Tat (b)
Trocken	Mor, Tat (u)	Die, Mor, Uff, Brei (u), Tat (u), StA	NWe (u), Tat (u), StA

¹ b, beregnet; u, unberegnet; Die, Dietersheim (Oberbayern); Fel, Feldkirchen (Oberbayern); Mor, Morgenrot (Sachsen-Anhalt); Sel, Seligenstadt (Franken); Söl, Söllingen (Niedersachsen); Rog, Roggenstein (Oberbayern); Uff, Uffenheim (Franken); Bre, Breitstetten (NÖ, Marchfeld); NWe, Niederweiden (NÖ, Marchfeld); Tat, Tattendorf (NÖ, Steinfeld); StA, St. Andrä am Zicksee (Burgenland, Seewinkel); Kis, Kiszombor (Südungarn); Sze, Szeged (Südungarn)

Der Einsatz des Leaf Porometers erfordert hingegen hohen Aufwand während eines kurzen Zeitfensters (zwischen 11 und 15 Uhr bei wolkenlosem Himmel), da stets nur einzelne Blätter gemessen werden können. Nach Anzeige des ersten Messwertes, muss die Zange, in der das Blatt eingespannt war, getrocknet werden. Pro Parzelle werden mehrere Blättern gemessen.

Der Wurzeltiefgang und die Intensität des Wurzelsystems werden mit der elektrischen Leitfähigkeit erhoben. Die Messung selbst erzielt rasch ein Ergebnis, man stößt jedoch bei skelettreichen Böden bald an Grenzen. Bei geringer Bodenfeuchte lässt sich der Sensor nicht leicht in den Boden einstecken. An tau- oder regennassen Beständen ist eine Messung nicht möglich.

Über die Austrocknungstoleranz gibt das Osmometer Auskunft. Dazu werden Blätter bis zur völligen Aufsättigung in destilliertem Wasser eingelegt. Nach oberflächlicher Trocknung werden die Proben gefroren, bis sie zu einem

späteren Zeitpunkt gepresst werden um den Zellsaft für die Analyse im Osmometer zu gewinnen.

Die Messung der Oberflächentemperatur des Blattes setzt eine gleichbleibende Sonneneinstrahlung und möglichst geringe Windgeschwindigkeit voraus. Das heißt, ein umfangreiches Sortiment unter freiem Himmel zu messen, ist unmöglich, da beispielsweise in pannonischen Regionen meist ein Wind weht und wolkenlose Atmosphäre um die Mittagsstunden im Jahr 2010 eine Seltenheit war. Die gewonnenen Daten sind oftmals mit hohen Versuchsfehlern behaftet. Deshalb wurde dieses Merkmal im Jahr 2011 nicht mehr gemessen. Die Methode erscheint für Gewächshausversuche eher geeignet. FRIEDLHUBER et al. (2011) fand hingegen an einem kleineren Sortiment und mittels Wärmebildkamera signifikante Unterschiede zwischen den Sorten. Von den Messparametern ist der Chlorophyllgehalt des Fahnenblattes am raschesten und einfachsten zu realisieren. Ähnliche Ergebnisse erzielte auch TEIZER (2010).

Tabelle 2: Deskriptive Statistik und Varianzanalyse der Parameter Kornertrag (KOEQ), Ährenschieben (DTAE), Gelbreife (DTGR), Einkörnungsdauer (GRAE), Blattseneszenz (SZF), Wuchshöhe (WHOE) und Bestandesdichte (BEST) über alle Umwelten (2010-2011)

Table 2: Descriptiv statistics and ANOVA of the parameters yield (KOEQ), heading (DTAE), ripening (DTGR), grain filling period (GRAE), leaf senescence (SZF), plant height (WHOE) and ears per square meter (BEST) over all environments (2010-2011)

	KOEQ	DTAE	DTGR	GRAE	SZF1	SZF2	SZF3	WHOE	BEST
N	14	14	14	14	10	10	10	14	10
Min	19,2	129	168	29	0	0	2	44	211
Max	137,4	163	210	62	100	100	100	127	1030
Mittel	66,9	146	188	42	20	58	84	85	451
Jahr (J)	158,97**	28732,84**	12929,27**	645,84**	2,01	39,28**	19,66**	2323,57**	61,26**
Geotyp (G)	62,60**	953,89**	176,57**	95,36**	20,87**	44,91**	32,22**	318,07**	7,31**
Umwelt (U)	823,50**	3579,78**	4042,08**	1782,23**	100,38*	180,19**	130,96**	984,61**	168,22**
J×G	2,70**	15,208**	14,54**	20,83**	1,38	2,53**	1,49	4,35**	0,89
J×U	148,01**	1752,27**	816,77**	1130,73**	52,28**	78,75**	70,20*	253,61**	93,67
G×U	3,07**	7,401**	4,57**	5,02**	2,29**	1,69**	2,74**	2,20**	1,38**
J×G×U	1,68**	4,63	3,29**	4,07**	1,17	1,73**	1,59**	1,58**	1,22
Fehler	50,17	0,80	1,41	1,76	195,99	305,38	150,52	18,66	3587,71

Tabelle 3: Deskriptive Statistik und Varianzanalyse von Chlorophyllgehalt (SPD), Wurzelkapazität (EKA), Stomataleitfähigkeit (STO), osmotisches Potenzial (OSP) und Blatttemperatur (OTEM) über alle Umwelten (2010-2011)

Table 3: Descriptive statistics and ANOVA of the chlorophyll content (SPD), root capacity (EKA), stomatal conductance (STO), osmotic potential (OSP) and leaf temperature (OTEM) over all environments (2010-2011)

	SPD1	SPD2	EKA	STO2	STO3	OSP	OTEM
N	12	7	5	4	2	4	2
Min	17,27	4,80	0,17	21,85	22,18	1,02	8,40
Max	65,49	61,37	1237,01	608,46	266,28	57,78	32,50
Mittel	48,29	45,84	124,80	292,67	100,64	11,82	20,63
Jahr (J)	1912,06**	2631,16**	448,94**	845,90**	-	52423,91**	-
Geotyp (G)	96,60**	42,49**	0,97	4,27**	-	0,99	2,83**
Umwelt (U)	144,82**	366,63**	0,08	138,12**	9,83**	45,46**	60,42**
J×G	7,25**	7,26**	3,04**	1,09	-	1,20	-
J×U	249,40**	185,00**	-	7,20**	-	-	-
G×U	3,25**	3,61**	0,51	1,28	-	0,93	2,83**
J×G×U	3,81**	1,89**	-	0,90	-	-	-
Fehler	6,59	18,14	24342,96	5048,14	978,11	0,01	9,18

Tabelle 4: Intervarietale Korrelation der Parameter an den Standorten mit Trockenstress (2010-2012)

Table 4: Intervarietal correlation of investigated parameters at the locations with drought stress (2010-2012)

Parameter	Korrelationskoeffizienten		
Ertrag und Ertragsstruktur			
Kornertrag	-0,090	bis 0,777**	
1000-Korngewicht	0,400 *	bis 0,903**	1
Bestandesdichte	-0,305	bis 0,588**	
Kornzahl pro Ähre	-0,050	bis 0,777**	1
Kornzahl pro m ²	0,234	bis 0,830**	1
Ährengewicht	-0,263	bis 0,610**	2
Parameter der Dürreflucht			
Ährenschieben	0,825 **	bis 0,976**	1
Blüte	0,689 **	bis 0,971**	1
Gelbreife	0,404 *	bis 0,889**	1
Einkörnungsdauer	-0,229	bis 0,773**	2
Fahnenblattseneszenz 1	-0,134	bis 0,831**	1
Fahnenblattseneszenz 2	0,252	bis 0,932**	1
Fahnenblattseneszenz 3	0,200	bis 0,978**	1
Parameter zur Vermeidung von Austrocknung			
Blattrollen	0,443 *	bis 0,771*	1
Wuchshöhe	0,681 **	bis 0,941**	1
Stomatäre Leitfähigkeit	0,036	bis 0,233	
Elektrische Wurzelkapazität	-0,091	bis 0,630**	
Parameter der Austrocknungstoleranz			
Chlorophyllgehalt im Blatt 1	0,053	bis 0,912**	1
Chlorophyllgehalt im Blatt 2	0,050	bis 0,822**	1
Chlorophyllgehalt im Blatt 3	0,026	bis 0,821**	
Oberflächentemperatur		0,002	
Osmotisches Potenzial	-0,424 *	bis 0,689**	

1 = Korrelation $\geq 70\%$; 2 = Korrelation 50-69% der Standorte

Varianzanalyse

In der Varianzanalyse über alle Standorte (Tabelle 2, Tabelle 3) zeigten sich bei den einzelnen Parametern meist hoch signifikante Jahres- (J), Genotyp- (G) und Umwelteffekte (U). Auch die Wechselwirkungen J×G, G×U, J×U und J×G×U waren in den meisten Fällen statistisch signifikant. Bei den Merkmalen KOEQ, DTAE, DTGR und GRAE hatten das Jahr, die Umwelt und deren Wechselwirkung den größten Einfluss. Bei der Fahnenblattseneszenz hatte das Jahr von den Hauptfaktoren den geringsten, die Umwelt den höchsten Einfluss auf die Gesamtvarianz. G×U war zu allen drei Terminen hoch signifikant. Bei WHOE waren sämtliche Faktoren und Wechselwirkungen hoch signifikant. Hingegen zeigte BEST nur Signifikanzen in den Hauptfaktoren und in der Wechselwirkung G×U. Die Fehlervarianz war dabei relativ hoch. Beim Chlorophyllgehalt zeigten sich wie beim Kornertrag hohe Jahres- und Umwelteinflüsse. Die Parameter EKA und OSP wiesen jeweils sehr hohe Fehlerwerte auf. Bei OSP war das Jahr die entscheidende Einflussgröße; die Aussagen zu OTEM sind durch den geringen Datenumfang beeinträchtigt.

Reproduzierbarkeit der Parameter

Um Aussagen über die praktische Verwendbarkeit der einzelnen Parameter in der Züchtung tätigen zu können, ist die Reproduzierbarkeit der Parameter über die Umwelten bedeutsam. Dazu wurde jedes Merkmal über die Standorte intervarietal korreliert. In Tabelle 4 ist die Variation der Kor-

relationskoeffizienten der einzelnen Parameter dargestellt. Die mit „1“ gekennzeichneten Parameter zeigten eine Korrelation ab 70% der Standorte; jene mit „2“ gekennzeichneten von 50-69% der Standorte. Der Kornertrag zeigte bei 46% der Standorte eine Signifikanz. Mit Ausnahme von BEST waren die Ertragskomponenten über die Umwelten gut bis sehr gut reproduzierbar. Die höchste Übereinstimmung wurde bei TKG erzielt. Die „Dürreflucht“-Parameter korrelierten ebenfalls gut bis sehr gut über die Umwelten. Bei den Merkmalen DTAE und DTBL wurde sogar in 100% der Fälle eine hochsignifikante Übereinstimmung gefunden. Auch SZF1-3 wiederholten sich oft an anderen Standorten. Lediglich GRAE variierte in größerem Ausmaß.

Bei den Parametern die mit der Vermeidung der Austrocknung assoziiert sind korrelierten BLRO und die WHOE intervarietal sehr stark über die verschiedenen Orte hinweg; STO2-3 und EKA hingegen gar nicht bis sehr selten.

Bei der Austrocknungstoleranz zeigte der Chlorophyllgehalt je nach Entwicklungsstadium eine hohe bis mittlere Übereinstimmung. Die frühesten Messungen (BBCH 43-59) und die mittleren Messungen (BBCH 60-71) korrelierten in 71 bzw. 70% der Fälle. Bei einer späteren Messung wurde eine Übereinstimmung noch in 40% der Standorte erzielt. Bei OSP war die Übereinstimmung nur zufallsbedingt.

Kornertrag unter Trockenstress

Korrelationen zwischen KOEQ unter Trockenbedingungen und den einzelnen Parametern waren signifikant bei folgenden Merkmalen: KZAE ($r=0,62^{**}$), KZM2 ($r=0,67^{**}$), AEGW ($r=0,62^{**}$), Entwicklungsstadien ($r=0,48^*$ bis $0,51^*$), SZF1-3 ($r=-0,47^*$ bis $-0,64^{**}$), SPD1-3 ($r=0,44^*$ bis $0,66^{**}$) und OSP ($r=0,67^{**}$). Bei allen übrigen Parametern konnten keine Zusammenhänge zu KOEQ festgestellt werden.

Um auch komplexere Verbindungen zu erhalten, wurde in einem gemischten linearen Modell geprüft, ob die Herkunft, die Backqualität oder die Begrannung einen Einfluss auf KOEQ bei trockengestressten Versuchen haben. Es zeigte sich, dass die Herkunft einen signifikanten Einfluss auf KOEQ hatte. Um Schwankungen von Ort und Jahr abzufangen, wurden diese Faktoren als zufällige Effekte ins Modell aufgenommen. Die Begrannung hatte keinen signifikanten Einfluss. Die Backqualität lieferte lediglich eine Mehrinformation, wenn die Begrannung im Modell berücksichtigt wurde. RICHARDS et al. (2002) schlug eine Selektion auf Grannen zur Erhaltung der photosynthetischen Aktivität und Verbesserung der Transpirationseffizienz vor.

Tabelle 5: Hauptkomponenten und zugrundeliegende (ursprüngliche) Parameter zur Modellierung des Kornertrages unter Trockenbedingungen (2010-2012)

Table 5: Principal components and underlying parameters for the modeling of yield under drought stress (2010-2012)

Hauptkomponente	Parameter
PC1	DTGR, GRAE, GRBL, DTBL, DTAE
PC2	DTAE, DTBL, GRBL
PC3	HLGW, WHOE, SZF1
PC4	BLAE, BEST, WHOE

Neben diesen kategoriellen Variablen sollte auch der Einfluss der übrigen Parameter auf KOEQ untersucht werden. Es wurden jene Merkmale in das Modell einbezogen, bei denen mindestens 240 (von 290) Beobachtungen vorhanden waren. Dies traf auf DTAE, DTBL, DTGR, BLAE, GRBL, GRAE, WHOE, TKG, HLGW, BEST und SZF1 zu. Mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) wurden diese 11 Parameter auf 4 Hauptkomponenten (PCs) reduziert. Jeder der vier gewonnenen PCs wurde aus den elf ursprünglichen Merkmalen berechnet. Welche von diesen den größten Teil zur jeweiligen Hauptkomponente beitrugen, kann *Tabelle 5* entnommen werden.

In einem weiteren linearen gemischten Modell wurde der Einfluss der errechneten Hauptkomponenten untersucht. Herkunft, Sorte, Ort und Jahr wurden durch entsprechende fixe bzw. zufällige Effekte berücksichtigt. Es zeigte sich, dass nur Hauptkomponente 3 einen signifikanten Einfluss auf KOEQ ausübt. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die lineare Kombination der Parameter HLGW, WHOE und SZF1 zu einer Erhöhung des absoluten Kornertrages unter Trockenstress beiträgt.

Bei allen übrigen Parametern, bei denen eine Hauptkomponentenanalyse aufgrund von vielen fehlenden Werten nicht sinnvoll war, wurde der Einfluss eines Parameters ohne Berücksichtigung der anderen Parameter mittels Modellierung untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Parameter SPD1, SPD2, STO2, OSP2 und SZF2 einen signifikanten Einfluss auf KOEQ haben. Wobei das Ergebnis für STO2 aufgrund der sehr geringen Anzahl an Beobachtungen mit großer Unsicherheit behaftet bleibt.

Kornertragsdifferenz als Maß der Trockentoleranz

Neben dem absoluten Kornertrag ist der Ertragsverlust unter Trockenstress im Vergleich zu einer ausreichenden Wasserversorgung ein weiteres Indiz für Trockentoleranz. Dazu wurden österreichische Versuche ausgewählt, bei denen beide Varianten vorkamen und Trockenstress während der Vegetationsperiode auftrat. In Tattendorf 2010 litten die Genotypen erst sehr spät unter Trockenstress, wodurch auch teilweise nicht absicherbare Mehrerträge auftraten. In *Abbildung 1* sind die genotypisch bedingten Kornertragsdifferenzen an den Standorten dargestellt.

Innerhalb der Qualitätsweizen sind die Sorten 'Exklusiv', 'Bitop' und 'GK Kalász' den Sorten 'GK Petur' und 'Capo' überlegen. Bei den Mahlweizen erwiesen sich 'GK Hunyad', 'Premio' und 'Brilliant' trockenresistanter als 'Eurojet', 'Hybrid' und 'JB Asano'. Zur statistischen Verrechnung wurden zwei Fälle untersucht: (1) Tattendorf 2010-2012 und (2) Tattendorf und Niederweiden 2012. Aus den Werten der Versuche Tattendorf 2010 bis 2012 konnte mit 13 Parametern eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt werden. Diese wurden auf vier Hauptkomponenten reduziert (*Tabelle 6*).

Mittels Modellierung wurde der Einfluss der Parameter auf KOEQ untersucht. Im Modell wurde der Faktor Beregnung berücksichtigt. Unberegnung wurde als Referenz gewählt. Das heißt, die Konstante (*intercept*) gibt das Grundniveau für einen unberegneten Versuch einer Qualitätsweizensorte aus Österreich an. *Tabelle 7* zeigt, dass PC1

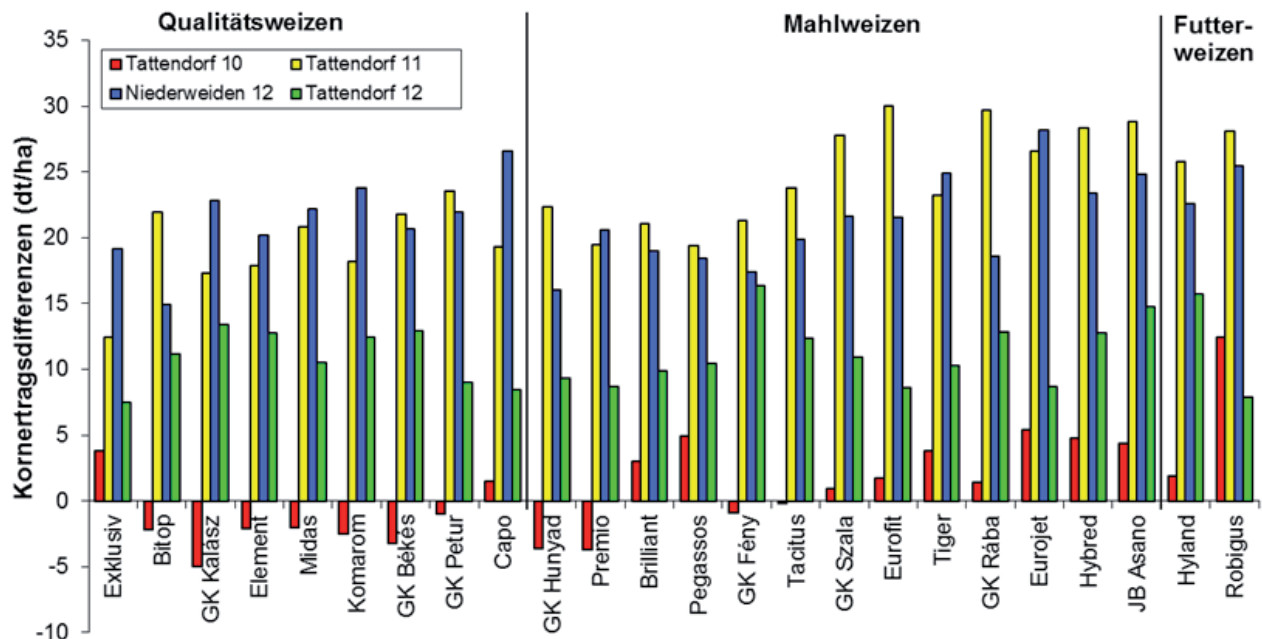


Abbildung 1: Kornertragsdifferenz zwischen beregneten und nicht beregneten Versuchen (2010-2012, gereiht nach steigender Differenz)

Figure 1: Yield difference between irrigated and non-irrigated trials (2010-2012, ordered by increasing difference)

Tabelle 6: Hauptkomponenten und ursprüngliche Parameter zur Modellierung des Kornertrages unter Trockenbedingungen (Tattendorf 2010-2012)

Table 6: Principal components and underlying parameters for the modeling of the yield under drought stress (Tattendorf 2010-2012)

Hauptkomponente	Parameter
PC1	DTGR, DTAE, DTBL
PC2	BLAE, SZF1, SZF2, SZF3
PC3	HLGW, GRBL, TKG
PC4	GRAE

Tabelle 7: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für den Kornertrag am Standort Tattendorf (2010-2012) mit den gewonnenen Hauptkomponenten als Prädiktoren

Table 7: Coefficients and variance components of the linear mixed model for grain yield at the location Tattendorf (2010-2012) with extracted principal components as covariates

	Parameter
Intercept	47,18
PC1	-189,23
PC2	48,64
PC3	5,53
PC4	129,61
Feucht	-1,31
Herkunft	
DE ¹	-0,85
HU	-1,63
Qualität	
MW	1,31
FW	-5,83
Varianzkomponenten	
Sorte	7,51
Jahr	6,04
Fehler	4,63

¹ DE, Deutschland; HU, Ungarn; MW, Mhlweizen; FW, Futterweizen

Tabelle 8: Hauptkomponenten und ursprüngliche Parameter zur Modellierung des Kornertrages unter Trockenbedingungen (Tattendorf und Niederweiden 2012)

Table 8: Principal components and the underlying Parameters for the modeling of the yield under drought stress (Tattendorf and Niederweiden 2012)

Hauptkomponente	Parameter
PC1	DTGR, SZF2, SZF3, DTBL, DTAE
PC2	KZM2, AEGW, BEST, SPD2
PC3	GRBL, GRAE
PC4	KZAE, TKG, HLGW

zu einer Verringerung des erwarteten Kornertrages beiträgt, während die PC2-4 eine Erhöhung mit sich bringen. Da aber bei PC1 die ursprünglichen Parameter negativ eingehen, verringert sich durch deren Erhöhung die Hauptkomponente. Wenn sich die Kombination von DTGR, DTAE und DTBL erhöht, steigt KOEQ unter Trockenbedingungen.

Die weiteren in *Tabelle 6* genannten ursprünglichen Parameter gehen positiv bei der Bildung der entsprechenden Hauptkomponenten ein. Da PC2-4 auch positiv sind, steigt

Tabelle 9: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für den Kornertrag an den Standorten Tattendorf und Niederweiden 2012 mit den gewonnenen Hauptkomponenten als Prädiktoren

Table 9: Coefficients and variance components of the linear mixed model for grain yield at Tattendorf and Niederweiden 2012 with extracted principal components as covariates

	Parameter
Intercept	43,55
PC1	n.s.
PC2	-25,60
PC3	16,72
PC4	n.s.
Feucht	5,43
Herkunft	
DE ¹	-0,96
HU	-0,23
Qualität	
MW	1,93
FW	-1,51
Varianzkomponenten	
Sorte	3,53
Jahr	184,84
Fehler	4,40

¹ DE, Deutschland; HU, Ungarn; MW, Mhlweizen; FW, Futterweizen

der erwartete KOEQ bei Erhöhung der entsprechenden ursprünglichen Parameter. Durch Einbeziehung des erst zur Ernte trockenen Jahres 2010 in das Modell verringert sich der erwartete KOEQ unter Feuchtbedingungen.

Führt man die Hauptkomponentenanalyse für die Standorte Tattendorf und Niederweiden 2012 durch, ergeben sich neue Hauptkomponenten (*Tabelle 8*).

Auch hier konnten die Parameter auf 4 Hauptkomponenten reduziert werden. Die Ergebnisse der Modellierung, bei der sich PC 2 und PC 3 als signifikant herausstellten, sind der *Tabelle 9* zu entnehmen. KZM2, AEGW und BEST gehen negativ in das Modell ein, SPD2 hingegen positiv. Das heißt, eine Erhöhung der Ertragsparameter bewirkt einen höheren Ertrag, ein Anstieg der SPAD-Werte hingegen verringert diesen unter Trockenbedingungen. In *Tabelle 9* ist auch ersichtlich, dass der erwartete Kornertrag für Versuche mit ausreichender Wasserversorgung deutlich höher ist, als für trockene Standorte.

Schlussfolgerung

Um einen Trockenstressparameter in der Züchtung realisieren zu können, muss dieser mit geringem Aufwand erfolgreich einsetzbar sein, über die Umwelten gut reproduzierbar und eine Aussagekraft für das Problem Trockenstress besitzen. Die Messungen von EKA, STO, OSP und OTEM erfüllen die Forderung der einfachen Einsetzbarkeit nicht. Die Parameter der „Dürreflucht“ sowie die Chlorophyllmessungen sind rasch durchführbar und können gut über die verschiedenen Umwelten reproduziert werden. BLRO, WHOE und die Ertragsstruktur korrelierten mehrheitlich gut an unterschiedlichen Standorten. Mit Ausnahme von BLRO und WHOE konnte bei diesen Parametern ein Zusammenhang zu KOEQ unter Trockenbedingungen gefunden werden. Weiters wurde aufgezeigt, dass die

Begrannung keine höhere Trockentoleranz einer Sorte bewirkt. Eine Hauptkomponentenanalyse über Standorte mit Trockenstress zeigte, dass die Kombination der Parameter HLGW, WHOE und SZF zu einer Erhöhung des KOEQ beitragen. Eine Hauptkomponentenanalyse der berechneten und trocken gestressten österreichischen Versuche 2012 erzielte zwei signifikante Hauptkomponenten, die aus den Ertragskomponenten und GRAE bestehen.

Zusammenfassend erscheinen die Parameter DTAE, DTGR, GRAE, SZF und SPD am ehesten geeignet trocken tolerante Genotypen zu identifizieren. BLRO und die Begrannung brachten in diesen Versuchen wenig Aussage über Trocken toleranz. Die übrigen Parameter sind meist aufwendig zu erheben bzw. nicht genügend reproduzierbar.

Danksagung

Die Ergebnisse wurden im Rahmen von zwei CORNET-Projekten (Collective Research NETWORKING) erzielt, die in Österreich durch die FFG (Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft) und Saatgut Österreich finanziert wurden. In Deutschland wurde das Projekt aus Mitteln der AiF (Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen) und des BMWi (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie) gefördert. Die Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) beteiligte sich ebenfalls. In Ungarn trat NKTH (National Office for Research and Technology) als Finanzpartner auf.

Literatur

- AGES, 2013: Österreichische Beschreibende Sortenliste 2013, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2013. Bundesamt für Ernährungssicherheit, Wien.
- CHAVES MM, MAROCO JP, PEREIRA JS, 2003: Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Funct Plant Biol* 30, 239-264.
- FRIEDLHUBER R, SCHMIDHALTER U, HARTL L, 2011: Einfluss von Trockenstress auf die Bestandestemperatur und den Ertrag bei

Weizen (*Triticum aestivum*). Bericht 61. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2010, 155-158. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.

- HALLAE, 2001: Crop responses to environment. CRC Press, Boca Raton.
- JONES H, 2004: What is water use efficiency? In: BAKON MA (Eds), Water use efficiency in plant biology, 27-41. Blackwell Publ, Oxford.
- JONES HG, CORLETT JE, 1992: Current topics in drought physiology. *J Agric Sci* 119, 291-296.
- LEVITT J, 1972: Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
- LUDLOW MM, MUCHOW RC, 1990: Critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Adv Agron* 43, 107-153.
- OBERFORSTER M, SCHMIDT L, WERTEKER M, 1994: Bewertungsschema '94 der technologischen Qualität von Weizensorten (Weichweizen). *Jahrbuch* 1993, 257-280. Bundesanstalt für Pflanzenbau, Wien.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012: R: A language and environment of statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. (<http://www.R-project.org/>).
- RAY JD, SINCLAIR TR, 1997: Stomatal closure of maize hybrids in response to drying soil. *Crop Sci* 37, 803-807.
- RICHARDS RA, REBETZKE GJ, CONDON AG, VAN HERWAARDEN AF, 2002: Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci* 42, 111-121.
- SALIH AA, ALI I A, LUX A, LUXOVA M, COHEN Y, SUGIMOTO Y, INANAGA S, 1999: Rooting, water uptake and xylem structure adaptation to drought of two sorghum cultivars. *Crop Sci* 39, 168-173.
- TABACHNICK BG, FIDELL LS, 2007: Using multivariate statistics, 5th Ed. Allyn & Bacon, Boston.
- TEIZER B, 2010: Novel selection criteria for drought tolerant winter wheat genotypes and their correlations to drought stress indicators, crop developments, plant morphology, yield and quality parameters. M.Sc. Thesis, BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna.
- WEST BT, WELCH KB, GALECKI AT, 2007: Linear mixed models. A practical guide using statistical software. Chapman & Hall, New York.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Hohe Glucosinolatgehalte in Raps - eine Folge der Klimaänderung

High glucosinolate levels in rapeseed - a consequence of changed climate

Manfred Werteker^{1*}, Klemens Mechtler und Gabriela Kramreither

Abstract

In 2012 rapeseed (*Brassica napus* L.) grain yield and glucosinolate levels (GSL) were significantly affected by varying environmental conditions. The lowest grain yield (19.5 dt·ha⁻¹) together with the highest level of GSL (40.8 μmol·g⁻¹) was observed in North East Austria while highest yields (70.1 dt·ha⁻¹) were observed in Upper Austria together with low to moderate GSL levels. Year specific peculiarities were the occurrence of frost after flowering in the second half of May and a lack of precipitations in the Northeastern areas from April until harvest time. Therefore, it was hypothesized that high GLS levels may be the consequence of an increased nitrogen supply due to reduced increase of biomass during the vegetation period. Our observations made clear, that grain yield is influenced by local climatic conditions - low yields in Eastern Austria due to frost and lack of water and high yields in Western Austria. But no reliable relation could be established between yield and nitrogen uptake, which was indicated by the crude protein level of the seeds. The relation between yield and protein was strongly influenced by the location of the trials. It may be argued, that there are too many environmental influences on the distribution of nitrogen to the different parts of the plant. For high yields the protein and GSL levels seem to be limited by the available nitrogen but low yields are not necessarily associated with high protein levels. The high GSL levels in the present study are caused by the majority by a high nitrogen uptake before damaging of the

yield by freezing. Good linear correlations were found between protein and GSL levels of the seeds ($R^2 = 0.44$). Excluding the varietal impact in the calculation improved the correlation to $R^2 = 0.61$. From our observations it may be concluded that whilst there is no direct relation between yield and protein level in the seeds, the linear relation between proteins and GSL indicates these two compounds have the same precursors. The linearity of this relation may also be interpreted as a hint that there is no metabolism activated by circumstances inducing higher protein levels. This and the observed limitation of protein levels by high yields are in good agreement to studies reporting increased GSL concentrations in *Brassica* shoots by environmental stress as a consequence of reduced biomass increase (ANTONIOUS et al. 2009), while the enhancement of GSL production by stimulation of the metabolism is reported as a response to pathogen challenge, herbivore damage and mechanical wounding (GRUBB and ABEL 2006). In sound plant material GSL synthesis seems to be dependent mostly on the genotype and not on the environment (FRANCISCO et al. 2011). In some distinct cases, especially in broccoli, reactions of GSL synthesis to environmental conditions (e.g. osmotic stress) are reported, but these seem to be dependent to a high degree on the genetic preconditions of the plant (ZAGHDOUD et al. 2012).

Keywords

Brassica napus, drought, environment, frost, protein

References

- ANTONIOUS GF, BOMFORD M, VINCELLI P, 2009: Screening *Brassica* species for glucosinolate content. J Environ Sci Health B 44, 311-316.
- FRANCISCO M, CARTEA ME, SOENGAS P, VELASCO P, 2011: Effect of genotype and environmental conditions on health-promoting compounds in *Brassica rapa*. J Agric Food Chem 59, 2421-2431.

- GRUBB CD, ABEL S, 2006: Glucosinolate metabolism and its control. Trend Plant Sci 11, 89-100.
- ZAGHDOUD C, ALCARAZ-LÓPEZ C, MOTA-CADENAS C, MARTÍNEZ-BALLESTA MDEL C, MORENO DA, FERCHICHIA, CARVAJAL M, 2012: Differential responses of two broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) cultivars to salinity and nutritional quality improvement. Scientific World J 2012, 291435. DOI: 10.1100/2012/291435.

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Spargelfeldstraße 191, 1220 WIEN

* Corresponding author: Manfred WERTEKER, manfred.werteker@ages.at

Association mapping for pre-harvest sprouting tolerance in European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm

Volker Mohler^{1*}, Michael Oberforster² and Lorenz Hartl¹

Summary

Pre-harvest sprouting (PHS), the germination of mature grains in the spike before harvest, is an everpresent concern for many wheat-growing regions of the world. In Germany and Austria, wheat samples showing falling numbers (a measure for the effect of α -amylase on the rheological properties of starch) lower than 220 s are usually not marketable to the milling industry. The present study was undertaken with the objective of identifying markers linked to PHS tolerance quantitative trait loci in an elite association mapping panel of red-grained genotypes using Diversity Arrays Technology (DArT) markers. In 2009/2010 and 2010/2011 cropping seasons, 124 West European winter wheat genotypes were grown at eight locations in Germany and Austria, totalling 16 environments. The field trials included the genotypes with two replications. Four PHS data sets were collected: artificial wetting tests of intact spikes and germination tests of threshed seeds were applied to samples taken at physiological maturity from 13 and 12 environments, respectively, whereas falling number (14 environments) and percentage of sprout-damaged grains (4 environments) were determined from spikes that had experienced a period of natural/artificial weathering in the field (OBERFORSTER et al. 2012). Genotyping the sample population yielded 715 unique DArT marker signatures that were characterised by allele frequencies >5%

and missing genotype information <10%. The genotypic and phenotypic scores (of each single environment and across environments, respectively) were integrated in an association mapping framework consisting of generalized and mixed linear models with population and/or family structure as covariates. A total of 24 genomic regions/markers from 15 chromosomes were associated to at least one of the four PHS parameters of which 12 have already been described in previous studies. *Phs1*, a major locus for sprouting tolerance on chromosome 4AL repeatedly found in genetic analyses of PHS (MARES et al. 2005, TORADA et al. 2008), showed strong ($P < 0.01$) associations to intact-spike sprouting in 5 environments; weak association to the trait scores ($0.01 < P < 0.05$) was found for 3 environments. Concurrently, variation at *Phs1* was weakly associated to seed dormancy in 4 environments. Two marker loci on chromosomes 1DS and 5BL showed association with all parameters. In this study, several marker-trait associations were obtained that need to be confirmed with a larger sample population. For that, low running costs genotyping platforms are available that are ideal for the many thousands of samples of commercial breeding programmes.

Keywords

DArT, falling number, marker-trait association analysis, seed dormancy, sprout-damaged grains

Acknowledgments

We thank the following breeding companies for conducting the field trials and collaboration in the project: Lantmännen SW Seed GmbH (location Hadmersleben), Limagrain GmbH (location Rosenthal), Saatzucht Josef Breun GbR (location Herzogenaurach), Secobra Saatzucht GmbH (location Feldkirchen), Saatzucht Donau Ges.m.b.H & CoKG (location Reichersberg) and Saatzucht Edelhof (location Zwettl). Technical assistance provided by the working groups Wheat and Oat Breeding Research and Genome Analysis, and the department Quality Assurance and Analysis of the Bavarian State Research Center for Agriculture is gratefully acknowledged. CORNET project *Efficient phenotypic and molecular selection methods for enhancing preharvest sprouting tolerance of European wheat germplasm (Robust Wheat)* was supported by Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi), Allianz Industrie Forschung (AiF), Gemeinschaft zur Förderung der

privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP) e.V., Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft (FFG), Börse der landwirtschaftlichen Produkte in Wien and Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs.

References

- MARES D, MRVAK, CHEONG J, WILLIAMS K, WATSON B, STORLIE E, SUTHERLAND M, ZOU Y, 2005: A QTL located on chromosome 4A associated with dormancy in white- and red-grained wheats of diverse origin. *Theor Appl Genet* 111, 1357-1364.
- OBERFORSTER M, RATZENBÖCK A, WERTEKER M, NEUMAYER A, ZECHNER E, HARTL L, 2012: Variabilität und Beziehungen von Samendormanz, Auswuchs und Fallzahl in einem Sortiment europäischer Winterweizen. Bericht 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, 69-71.
- TORADAA, KOIKE M, IKEGUCHI S, TSUTSUI I, 2008: Mapping of a major locus controlling seed dormancy using backcrossed progenies in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 51, 426-432.s

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85354 FREISING

² Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

* Corresponding author: Volker MOHLER, volker.mohler@lfl.bayern.de

Study of yield components under heat stress conditions in wheat

Krisztina Balla^{1*}, Ildikó Karsai, Szilvia Bencze, Tibor Kiss and Ottó Veisz

Abstract

High temperature tolerance can be characterised by measuring various plant productivity traits in different developmental stages. The present work investigated the effect of exposure to high temperature (30-35°C) at first node appearance, during early embryo development and in the grain-filling stage on the yield parameters of two winter wheat varieties. Periods of high temperature had diverse effects on wheat plants in different phenophases. The greatest differences between the various developmental stages were found for grain number, grain yield and thousand-kernel weight. Heat stress was demonstrated to have the least effect on total grain number and number of grains per spikelet on the main spike during the grain-filling period. The most pronounced reductions in the traits examined were detected when heat stress was applied during the early embryo development stage.

Keywords

Global warming, high temperature, *Triticum aestivum*, yield parameter

Introduction

An increase in productivity under heat stress conditions will require the development and selection of wheat cultivars tolerant to high temperatures. Heat stress may cause considerable damage to both the length of vegetation period and yield components, but the extent of the damage is greatly influenced by the development stage in which the plants are subjected to high temperatures.

The temperature is of key importance for plant development, influencing the rate of tillering, the appearance of the nodes, flowering and even grain filling. Each phenophase has a specific temperature range within which it takes place normally to the benefit of the whole plant. If temperature conditions are unfavourable, the physiological processes may be defective, with negative consequences for both vegetative and generative developmental processes. Individual winter wheat genotypes respond differently to the exposure to high temperature in various developmental stages.

Satisfactory tillering is critical for the development of a normal stand. The rate of tillering is greatly dependent on temperature, though it also depends in part on genetic factors. The appearance of the first node is influenced to the greatest extent by temperature and nutrient and water supplies. Very high temperatures, especially when accompa-

nied by water deficit, may accelerate first node appearance excessively, resulting in stunted stems. Exposing cereals to extreme temperatures during flowering may have a damaging effect on fertilisation and grain development, leading to lower yields (PORTER 2005). In response to higher temperatures flowering and ripening are accelerated, with a significant reduction in the number of days to the boot stage, heading, flowering and maturity (RAHMAN et al. 2009). Heat stress at the beginning of flowering or during spikelet development reduces the number of potential grains. The weight of mature grains was found to be most sensitive to heat stress occurring early in the grain-filling period, becoming progressively less sensitive in later stages (STONE and NICOLAS 1995a). Stress may also be critical when it occurs during grain filling, as it may result not only in a reduction in the extent of grain filling (WARDLAW and MONCUR 1995), but also in more rapid cell death and in the earlier occurrence of harvest ripeness.

Research on the effects of exposure to heat stress in different phenophases is of outstanding importance, as the increasingly frequent occurrence of periods with extreme weather conditions means that wheat fields in Hungary may be affected not only in very early stages of development but also after heading. Heat stress may thus be decisive not only for grain filling, but also for the success of fertilisation and grain formation. One of the main aims of the present work was thus to determine the effects of high temperature during various phenophases on the yield potential of wheat.

Material and Methods

Three heat stress studies were carried out under controlled conditions in a climatic chamber on two winter wheat varieties, i.e. 'Plainsman V' (USA) and 'Mv Magma' (H), which have widely different genetic backgrounds. The plants were exposed to heat stress at a different stage of development: (i) at shooting in the 8th week; (ii) at early grain development, i.e. 6 days after heading; (iii) at grain-filling, i.e. 12 days after heading. An untreated control was included at each phenophase.

The germinated seeds were vernalised in peat pots for 45 days at 4°C with low light intensity and short daylength. The plants were then grown at controlled temperature with daily watering and a twice-weekly supply of nutrients (Volldünger Solution, Linz, Austria) in tap-water until the start of the stress treatment. High temperature was applied for 15 days under the conditions described in *Table 1* (TISCHNER et al. 1997).

¹ Cereal Resistance Breeding Department, Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, P.O.Box 19, H-2462 MARTONVÁSÁR

* Corresponding author: Krisztina BALLA, balla.krisztina@agrar.mta.hu

Table 1: Conditions applied in the heat stress experiments at three developmental stages

Treatment	Control			Heat stress		
	SH	EG	GF	SH	EG	GF
Growth stage ¹	SH	EG	GF	SH	EG	GF
Day/night temp.	17/13°C	19/25°C	24/20°C	30/20°C	35/20°C	35/20°C
Growing/stress conditions	Phytotron	Greenhouse ²	Phytotron	Phytotron light intensity: 350 µmol m ⁻² s ⁻¹		

¹ SH, shooting (Zadoks 32); EG: early grain development (Zadoks 71-73); GF, grain filling (Zadoks 75) (TOTTMAN and MAKEPEACE 1979)

² Plants heading at approximately the same time were transferred to the phytotron for heat treatment on the 6th day after heading and then returned to the greenhouse for further growth

When harvest maturity was reached, the grain yield, biomass, thousand-kernel weight, grain number and harvest index were recorded for control and heat-stressed plants. Two-factorial analysis of variance was used with replications for the statistical evaluation of the data (KUTI et al. 2008).

Results and Discussion

The response of winter wheat to high temperatures is influenced to a decisive extent not only by the intensity and duration of the heat stress but also by the developmental stage of the plants. High temperature during the most sensitive phenophases (first node appearance, early embryo development and grain filling) had very different effects on the wheat yields (*Table 2*).

The biomass of the varieties decreased in response to stress in all three phenophases. Biomass of 'Mv Magma' decreased to a greater extent than that of 'Plainsman V' when heat stress was applied in the shooting stage. The greatest reduction of harvest index (HI) was observed for both varieties when stress occurred in the early stage of embryo development. Heat stress during grain filling had little effect on HI of 'Mv Magma'; HI was affected to the greatest extent by heat stress at first node appearance. Contrary, in 'Plainsman V' heat stress had the least effect in this stage.

The smallest change in the number of grains was recorded when heat stress was applied 12 days after heading; the greatest change after heat stress at early embryo development (*Table 2*). 'Mv Magma' was most sensitive, i.e. greatest reduction in grain number, at shooting, 'Plainsman V' during early embryo development. Heat stress at grain-filling had neither an effect on grain number nor on the number of kernels per spikelet of the main spike, as the final grain

number had already been determined by this stage. In 'Mv Magma' heat stress during early embryo development caused no reduction in the number of kernels per spikelet. For both varieties the greatest reduction was caused by heat stress at first node appearance.

The smallest decrease in 1000 kernel weight (TKW) was recorded at the shooting stage, the largest in response to heat stress during grain filling. TKW of 'Plainsman V' decreased to a lesser extent than that of 'Mv Magma' when stressed both at shooting and at early embryo development. The greatest loss of grain yield was observed after heat stress during early embryo development. The smallest loss was observed for 'Mv Magma' when the treatment was applied during grain filling and by 'Plainsman V' after heat stress at first node appearance (*Table 2*). KAUR and BEHL (2010) reported that heat-sensitive and -tolerant genotypes are more sensitive in the booting stage than after flowering (based on grain yield and grain weight per spike) when exposed to temperatures of 31-34°C. While STONE and NICOLAS (1995b) found no reduction in grain weight when heat stress was applied more than 8 days after flowering, MOHAMMADI et al. (2004) detected reductions in grain and spike weight in response to heat stress applied even 10 days after heading. These results differ from the present findings in that considerable reductions in grain weight were observed for 'Plainsman V' after heat stress at both 6 and 12 days after heading. MOHAMMADI et al. (2004) also found no change in grain number, which was confirmed in the present work.

All in all it can be stated that 'Plainsman V' was more tolerant to heat stress in the shooting stage, while 'Mv Magma' was more tolerant during grain filling. Heat stress during early embryo development had a strongly negative effect on both varieties.

Table 2: Changes in yield parameters in response to heat stress at shooting, early embryo development and grain filling

Parameters ¹ Treatment		BIOM		HI		GRAIN		TKW		YLD		KEPS	
		C ²	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H
SH ³	Pla ⁴	7.4	6.7	36.1	34.6	102.4	95.4	26.7	24.4	2.8	2.3	2.3	1.64*
	Mag	7.2	4.8*	40.7	28.2*	113.8	60.2*	26.7	22.9*	2.9	1.4*	2.2	0.92*
EG	Pla	6.3	4.6*	53.2	43.8*	123.2	78.0*	27.4	26.2	3.4	2.1*	3.2	2.33*
	Mag	10.5	7.6*	52.5	38.7*	146.7	107.5*	37.7	28.9*	5.5	2.9*	2.0	1.79
GF	Pla	5.7	4.5*	44.8	34.4*	111.1	85.8	23.9	18.9*	2.6	1.5*	2.7	2.69
	Mag	6.6	4.9*	42.1	45.0	92.1	93.5	30.2	23.6*	2.8	2.2	2.4	2.34
LSD _{5%}		1.1		5.0		29.2		3.8		0.6		0.4	

¹ BIOM, biomass; HI, harvest index; GRAIN, number of grains; TKW, 1000 kernel weight; YLD, grain yield; KEPS, number of kernels per spikelet of the main spike

² C, control; H, heat stress

³ abbreviations see *Table 1*

⁴ Pla, Plainsman V; Mag, Mv Magma

Acknowledgement

This work was funded by grants from the DROPS (EU-FP7 No. 244374) and TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0025 projects.

References

- KAUR V, BEHL RK, 2010: Grain yield in wheat as affected by short periods of high temperature, drought and their interaction during pre- and post-anthesis stages. *Cereal Res Commun* 38, 514-520.
- KUTI CS, LÁNG L, BEDŐ Z, 2008: Informatical background of field experiments. *Cereal Res Commun* 36, 171-174.
- MOHAMMADI V, QANNADHA MR, ZALI AA, YAZDI-SAMADI B, 2004: Effect of post anthesis heat stress on head traits of wheat. *J Agr Biol* 6, 42-44.
- PORTER JR, 2005: Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature* 436, 174.
- RAHMAN MA, CHIKUSHI J, YOSHIDA S, KARIM JMS, 2009: Growth and yield components of wheat genotypes exposed to high temperature stress under controll environment. *Bangladesh J Agr Res* 34, 361-372.
- STONE PJ, NICOLAS ME, 1995a: Effect of timing of heat stress during grain filling on two wheat varieties differing in heat tolerance. I. Grain growth. *Aust J Plant Physiol* 22, 927-934.
- STONE PJ, NICOLAS ME, 1995b: Comparison of sudden heat stress with gradual exposure to high temperature during grain filling in two wheat varieties differing in heat tolerance. I. Grain growth. *Aust J Plant Physiol* 22, 935-944.
- TISCHNER T, RAJKAINÉ VÉGH K, KŐSZEGI B, 1997: Effect of growth medium on the growth of cereals in the phytotron. *Acta Agron Hung* 45, 187-193.
- TOTTMAN DR, MAKEPEACE RJ, 1979: An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann Appl Biol* 93, 221-234.
- WARDLAW IF, MONCUR L, 1995: The response of wheat to high temperature following anthesis. I. The rate and duration of kernel filling. *Aust J Plant Physiol* 22, 391-397.

Roggenschwarzrost, *Puccinia graminis* f. sp. *secalis*, mit resistenten Sorten kontrollieren Controlling stem rust in rye, *Puccinia graminis* f. sp. *secalis*, with resistant cultivars

Kerstin Flath^{1*}, Bettina Klocke^{1,†}, Anne Kristin Schmitt¹,
Brigitta Schmiedchen², Peer Wilde², Hartmut Spieß³ und Thomas Miedaner⁴

Abstract

Stem rust in rye (*Puccinia graminis* f. sp. *secalis*) is favored by hot spring and pre-summer temperatures and a lack of resistant cultivars in Germany. Our study aimed in analyzing the virulence situation of the pathogen and resistance situation of the host. Forty-one single-pustule isolates were tested with a preliminary differential set of 11 inbred lines selected out of a greater set of 48 lines. In addition, six lines reacted fully resistant in a detached-leaf test in seedling stage. Isolates showed a mean complexity of five virulences and were classified into 32 pathotypes. Only seven pathotypes could be found more than once. A Simpson index of 0.99 reveals a high level of diversity of German stem rust populations. In 2012, 30 rye populations were cultivated under organic conditions at five field sites, and further 40 populations at three sites, to determine the level of adult-plant resistance. The most commonly grown cultivars were highly susceptible to stem rust under artificial infection with disease severities of about 50%. Twelve foreign rye populations contained 16-62% fully resistant plants. These data are a promising starting point for developing more resistant rye cultivars.

Keywords

Adult-plant resistance, detached-leaf test, resistance breeding, rye populations, virulence analysis

Einleitung

Der Erreger des Schwarzrostes bei Roggen (*Puccinia graminis* f.sp. *secalis*) tritt in den kontinentalen Gebieten Deutschlands bereits heute regelmäßig auf. Er wird mit den Folgen des Klimawandels als wärmeliebendes Pathogen in den nächsten Jahren voraussichtlich noch erheblich höhere Schäden bewirken, wie es in den kontinentalen Gebieten in Polen und Russland heute schon geschieht. Da er mit pflanzenbaulichen Maßnahmen kaum und mit Fungiziden nur schwer zu bekämpfen ist, stellt Schwarzrost bei Roggen

für den ökologischen und konventionellen Anbau ein erhebliches Problem dar.

Roggen ist Fremdbefruchter und die vorliegenden Populationsarten sind deshalb hochgradig heterozygot und heterogen. Resistenzquellen zeichnen sich dadurch aus, dass sie unterschiedliche Anteile resistenter Einzelpflanzen enthalten. Im Rahmen eines dreijährigen Forschungsprojektes sollen (1) Resistenzquellen aus genetischen Ressourcen und adaptiertem Material gefunden, (2) ein Differentialsortiment auf der Basis von Inzuchtlinien entwickelt, (3) die Virulenzsituation des Schwarzrostes in Mitteleuropa untersucht und schließlich (4) Ausgangsmaterial für die Neuzüchtung von resistenten Roggenpopulationen bereitgestellt werden. Dazu werden Blattsegmenttests und mehrjährige Feldprüfungen mit künstlichen Schwarzrostinokulationen an fünf ökologisch bewirtschafteten Standorten durchgeführt.

Material und Methoden

Analyse der Roggenschwarzrostpopulation

Die Analyse der deutschen Roggenschwarzrostpopulation erfolgte mit Hilfe eines Differentialsortimentes aus derzeit 11 Inzuchtlinien, die aus einem 50 Linien umfassenden Sortiment der KWS Lochow GmbH nach ihrer differentiellen Schwarzrostreaktion ausgewählt wurden. Dazu wurde der Blattsegmenttest an den Erreger angepasst (KLOCKE et al. 2013). Die Infektionstypen 0 bis 2 zeigen inkompatible (avirulent/resistent), die Infektionstypen 3 bis 5 kompatible (virulent/anfällig) Reaktionen (verändert nach STAKMAN et al. 1962).

Adultpflanzen Resistenz

Zur Ermittlung der Adultpflanzen-Resistenz wurden 63 Populationen an 3 Orten (Kleinhohenheim bei Stuttgart; Berlin-Dahlem und Dahnsdorf, Landkreis Potsdam) bzw. 23 Populationen davon an weiteren 2 Orten (Dottenfelderhof, Bad Vilbel; Petkus bei Baruth) sowie sieben Populationsarten

¹ Julius-Kühn-Institut (JKI), Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 KLEINMACHNOW; † derzeit Institut für Strategien und Folgenabschätzung

² KWS Lochow GmbH, Ferdinand-von-Lochow-Straße 5, D-29303 BERGEN

³ Forschung & Züchtung Dottenfelderhof, LBS Dottenfelderhof e.V., D-61118 BAD VILBEL

⁴ Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART

* Ansprechpartnerin: Kerstin FLATH, kerstin.flath@jki-bund.de

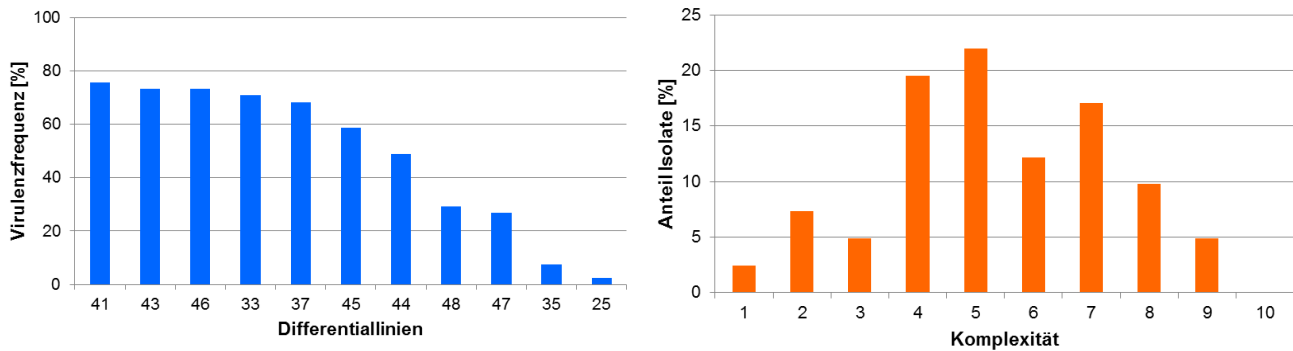


Abbildung 1: Virulenzfrequenz (links) und Virulenzkomplexität (rechts) von 41 Schwarzrostisolaten auf 11 Differentiallinien

Figure 1: Virulence frequency (left) and virulence complexity (right) of 41 stem rust isolates tested with 11 differential lines

ten mit besonderer Eignung für den Öko-Landbau ('Recrut', 'Conduct', 'Amilo', Firmament®, Lichtkornroggen®, Rolipa, Lautenbacher) an allen fünf Orten im Oktober 2011 unter ökologischen Bedingungen in dreifacher Wiederholung in Gitteranlagen angebaut. Die künstliche Inokulation der Prüfglieder im Freiland erfolgte im Entwicklungsstadium BBCH 59-65. Mit Hilfe eines Mikrosprayers wurde eine Öl- bzw. Agar-Sporensuspension auf die zu prüfenden Parzellen verteilt. Für 100 m² Prüffläche wurden 120 mg Sporen verwendet (FLATH 2000a,b, FLATH und BARTELS 2000). Der prozentuale Anteil befallener Stängelgröße wurde mit Hilfe eines Boniturschemas am Ende der Epidemie an 30 Einzelpflanzen je Prüfglied erfasst und daraus der Mittelwert errechnet.

Ergebnisse

Virulenzsituation und Diversität der Roggenschwarzrostpopulation

In den Jahren 2011 und 2012 wurden bisher insgesamt 42 schwarzrostbefallene Blattproben aus den wichtigsten Anbauregionen des Roggens von ökologisch und konventionell wirtschaftenden Betrieben untersucht. Wir beabsichtigen von jeder Probe 5 Einpustelisolat (EPI) herzustellen, um eine repräsentative Aussage über die Variation innerhalb und zwischen den Standorten zu ermöglichen.

Mit Hilfe von 41 EPI konnten aus einer Stichprobe von 48 Linien elf Inzuchtlinien gefunden werden, die eine Differenzierung des Befalls zeigten (Abbildung 1), sechs weitere

Tabelle 1: Mittlere Befallsstärke (%) und statistische Kennwerte von Roggenpopulationen an den Standorten Kleinhohenheim (KHOH), Berlin-Dahlem (DAHL), Dahnsdorf (DAHN), Dottenfelderhof (FZD) und Petkus (PET)

Table 1: Mean disease severity (%) and statistical parameters of rye populations tested at the locations Kleinhohenheim (KHOH), Berlin-Dahlem (DAHL), Dahnsdorf (DAHN), Dottenfelderhof (FZD) und Petkus (PET)

Parameter	KHOH	DAHL	DAHN	FZD	PET
Anzahl Populationen	70	70	70	30	30
Datum der Bonitur	17. Juni	19. Juni	3. Juli	12. Juli	6. Juli
Mittlere Befallsstärke (%)	58,0	44,5	45,0	42,0	19,5
Wiederholbarkeit (%)	83,1	75,7	72,2	90,7	41,4

Linien reagierten vollständig resistent, 31 Linien erwiesen sich als hoch anfällig. Die beiden letzteren Fraktionen tragen nicht zur Differenzierung der EPI bei, die vollständig resistenten Linien werden aber mit weiteren EPI geprüft. Mit diesem vorläufigen Differentialsortiment konnten die 41 EPI bisher 32 Pathotypen zugeordnet werden, von denen nur sieben Pathotypen häufiger als einmal vorkamen. Die Komplexität der Isolate schwankte zwischen ein und neun Virulenzen, die Mehrzahl wies eine Komplexität von fünf auf. Mit einem Simpson-Index von 0,99 zeigte sich schon jetzt eine hohe Diversität der deutschen Schwarzrostpopulation.

Feldversuche

Die Inokulation der Feldversuche mit Schwarzrostsporen war an allen fünf Standorten erfolgreich (Tabelle 1). Kleinhohenheim zeigte im Mittel die höchste Befallsstärke,

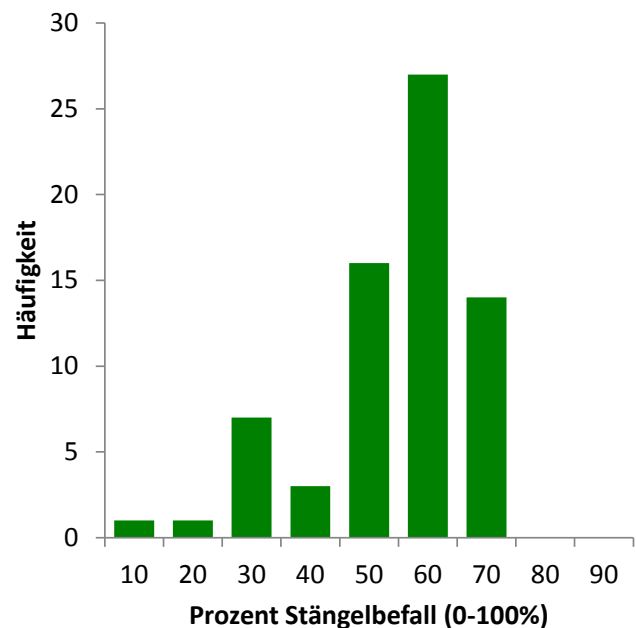


Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung des mittleren Schwarzrostbefalls der 70 Populationen, die über drei Orte mit künstlicher Infektion geprüft wurden

Figure 2: Frequency distribution of mean stem rust rating of 70 populations tested across three inoculated locations

Tabelle 2: Prozentualer Anteil befallener Pflanzen von fünf Populationen und der anfälligen Standardsorte Recrut (30 Pflanzen in drei Wiederholungen an drei Orten; gruppiert in 10 Befallsklassen (0-100%); hervorgehoben ist der Median)**Table 2: Percentage of plants of five populations and the susceptible standard cultivar Recrut** (30 plants in three replications at three locations; grouped into 10 classes; the median is highlighted)

Population	Befallene Stängelfläche (0-100%)									
	0	<9	<19	<29	<39	<49	<59	<69	<79	>80
Hy75/81	62	25	10	3	0	0	0	0	0	0
Hy9a/86	43	17	12	13	6	3	3	3	1	0
Talowskaja 29	29	23	13	11	6	7	4	6	2	0
Wrens Abruzzi	27	22	13	9	13	7	4	3	3	0
Wheeler	16	33	15	10	8	9	3	3	3	0
Recrut	0	0	0	0	1	13	23	48	14	0

gefolgt von Berlin-Dahlem, Dahnsdorf und dem Dottenfelderhof, während in Petkus die geringste Befallsstärke erfasst wurde. Hier konnte sich der Befall aufgrund einer Vorsommertrockenheit nicht weiterentwickeln, was auch zu einer geringeren Wiederholbarkeit führte.

Von den dreierortig geprüften 70 Populationen erwies sich die Mehrzahl als anfällig bis stark anfällig (Abbildung 2). Zwei russische Populationen waren nur sehr wenig befallen (<20%), sieben weitere Populationen zeigten geringen Befall. Die Heritabilität des Versuchs war mit 0,87 sehr hoch.

Fremdbefruchterpopulationen sind naturgemäß heterogen. Deshalb wurde der Schwarzrostbefall einzelhalmweise erfasst mit der anfälligen Population 'Recrut' als Standard (Tabelle 2). Dabei hatten die russischen Populationen Hy75/81, Hy9a/86 und 'Talowskaja 29' sowie die US-Population 'Wrens Abruzzi' den höchsten Anteil vollständig nicht-befallener Einzelpflanzen. Die US-Population 'Wheeler' sowie einige weitere russische Populationen erwiesen sich als mäßig resistent.

Diskussion und Schlussfolgerung

Die Virulenzanalysen zeigten, dass sechs der geprüften Linien nach Inokulation mit bislang 41 EPI vollständig resistent gegenüber dem Schwarzrost reagierten. Diese Linien sollen zusätzlich im Feld auf Adultpflanzenresistenz geprüft werden und könnten zukünftig zur Erzeugung neuer, widerstandsfähiger Roggensorten genutzt werden. Zehn weitere Linien erwiesen sich als geeignet, die EPI in Pathotypen einzuteilen.

Während die sieben Populationssorten mit besonderer Eignung für den Ökolandbau an allen Standorten homogen anfällig reagierten, konnten bei einigen Populationen aus Osteuropa und den USA bis zu 62% resistente Einzelpflanzen gefunden werden. Zur Erfassung dieser erwartungsgemäß heterogenen Reaktion erwies sich die Bonitur von 30 Einzelpflanzen pro Parzelle als erfolgreich. Um die mehrortig selektierten Populationen mit einem hohen Anteil resistenter Einzelpflanzen züchterisch nutzen zu können,

sollen mit Hilfe umfangreicher Blattsegmenttests resistente Einzelpflanzen ausgelesen und für Kreuzungszwecke verwendet werden.

Bereits die einjährigen Ergebnisse zeigen, dass trotz des hohen Infektionsdruckes durch die künstliche Inokulation an fünf Ökostandorten potentielle Resistenzquellen selektiert wurden, die zur Züchtung schwarzrostresistenter Sorten genutzt werden können. Im Jahr 2013 werden diese Quellen im Blattsegmenttest auf ihre Rassenspezialität geprüft, weitere potentielle Resistenzquellen im Freiland auf die beschriebene Weise inoculiert und die Populationen mit resistenten Einzelpflanzen nochmals im Feld geprüft.

Danksagung

Das Forschungsvorhaben wurde mit Mitteln des Bundesprogramms ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) gefördert (Fkz: 2810OE077). Besonderer Dank gilt Camilla Schönberg, Silvia Koch und Lilla Szabo für die Erhaltung der Isolate, die Betreuung der Freilandflächen sowie die Datenaufbereitung und -verrechnung.

Literatur

- FLATH K, 2000a: Getreidemehltau. Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtschaft 373, 6-8.
- FLATH K, 2000b: Braunrost des Weizens und Roggens; Zwergrost der Gerste. Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtschaft 373, 9-11.
- FLATH K, BARTELS G, 2000: Gelbrost. Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtschaft 373, 11-14.
- KLOCKE B, FLATH K, SCHMITT A-K, MIEDANER T, SCHMIEDCHEN B, SPIESS H, SZABO L, WILDE P, 2013: Kontrolle des Roggenswarzrostes (*Puccinia graminis* f. sp. *secalis*) im Ökologischen Landbau durch Züchtung resistenten Roggens. 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 5.-8. März, Bonn.
- STAKMAN EC, STEWART DM, LOEGENING WQ, 1962: Identification of physiological races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. US Dept Agric Res Serv E617.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Selection for drought resistance of wheat using electrical capacity measurements as indicators for root system size

Anna Hermanska^{1*}, Ladislav Blaha² and Irena Bizova³

Abstract

Root system size (RSS) of wheat is a selection criterion for drought tolerance. Wheat with a better root system can better exploit soil water resources and realize higher yields. Varieties with a good water management can be donors for the creation of new breeding material more resistant to drought. Results from root system size measurements at Czech locations from 2009-2012 are presented.

Keywords

Climate change, *Triticum aestivum*

Introduction

Globally drought is a main limiting factor for crop production. Global warming already affected the climate in Czech Republic in recent years: drought periods became more frequent and rainfalls were short and heavy resulting in a less sufficient use of water by crops. Contrary, the average air temperature increased and groundwater levels declined. The growing season 2012 was one of the driest in the last 60 years. Some fields were affected that much by drought that the crops were ploughed.

Root system size (RSS) of wheat could be a selection criterion for drought tolerance. During dry periods most plants expand with their roots to deeper soil regions. Plants are able to change their morphology during dry periods, e.g. the aboveground mass is reduced whereas the mass of roots is increased. Varieties react to drought in different ways, some of them expand into deeper soil horizons while others increase the volume of roots. Wheat varieties with a more effective water management are able to realize higher yields in drought prone environments (MANSCHADI et al. 2006). Varieties with good water management could be donors for the creation of new breeding lines and varieties with improved drought tolerance. An easy method for measuring root system size is electrical capacity of roots. The premise is a variety with a larger root system size would have a higher electrical capacity.

Material and methods

37 spring wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes were sown at two sites at a distance of 500 m at Uhretice (Czech Republic) in 2009. Every variety was sown by hand in 1 m

rows (10×15 cm distances within and between rows). Per row ten grains were sown. Each variety was sown in four replications. During the vegetation period the electrical capacity of RSS, the main characteristics and diseases were evaluated for each row. Based on these results and on additional hydroponics experiments (*Figure 1*) seven varieties with different RSS, i.e. 'Amaretto' (DE), 'Bárbaro-B' (CL), 'Bhouth 4' (SY), 'Frontana' (BR), 'Granny', 'Septima' and 'Zuzana' (all CZ), were selected for further tests.

These seven varieties and 20 breeding lines of their crossing progenies were sown at three sites (Chlumec nad Cidlinou, Hustopece, Uhretice) from 2010 to 2012. Each variety and line had 40 plants. The electrical capacity of RSS was measured on 24 plants. The first measuring was carried out during stem extension (DC 34-43), the second during hea-



Figure 1: Root system size of various spring wheat varieties in hydroponics experiments (1, Zuzana; 2, Amaretto; 3, Septima; 4, Granny; 5, Frontana; 6, Bárbaro-B; 7, Bhouth 4)

¹ Selgen Ltd., Uhretice Plant Breeding Station, CZ-538 32 UHRETICE

² RCI, Dmrovska 507, CZ-161 06 PRAHA 6 - RUZYNE

³ Selton, Research Centrum, Stupice 24, CZ-250 84 SIBRINA

* Corresponding author: Anna HERMANSKA, hermanska@selgen.cz

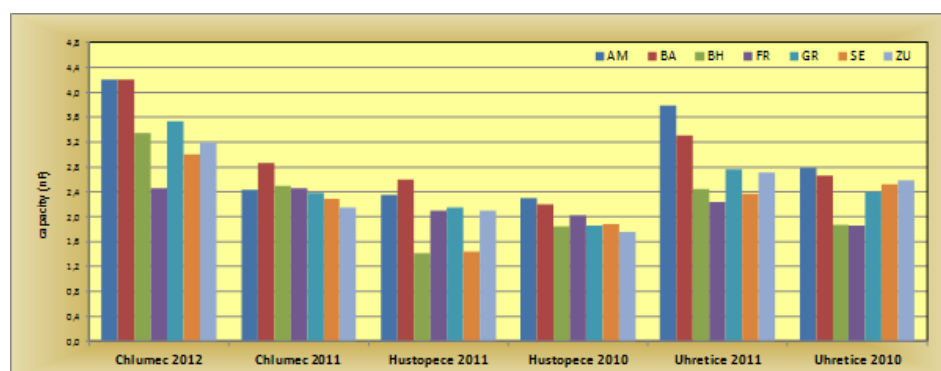


Figure 2: Mean electrical capacity of spring wheat RSS measured during stem extension and heading at three Czech locations in 2010-2012 (AM, Amaretto; BA, Bárbaro-B; BH, Bhouth 4; FR, Frontana; GR, Granny; SE, Septima; ZU, Zuzana)

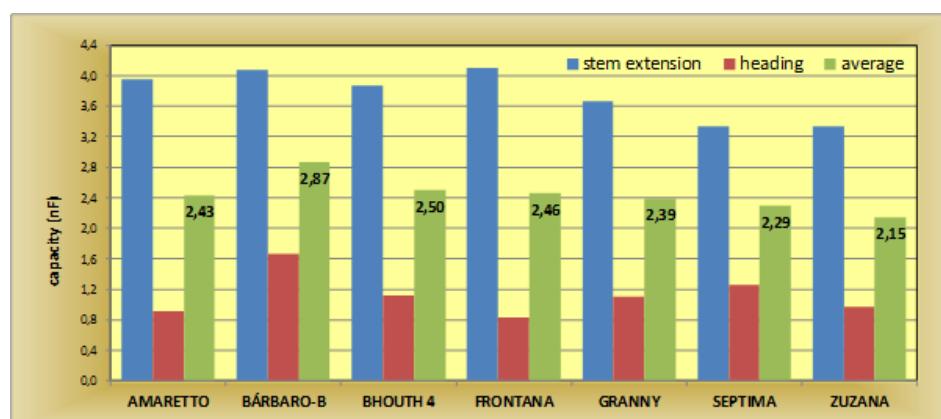


Figure 3: Mean electrical capacity of spring wheat RSS measured during stem extension and heading at Chlumec nad Cidlinou in 2011

Table 1: Mean electrical capacity of spring wheat RSS measured during stem extension and heading at Uhřetice in 2010

Variety	Electrical capacity (nF)		Mean
	Stem extension	Heading	
Amaretto	4.57	1.00	2.79
Bárbaro-B	4.41	0.92	2.66
Bhouth 4	3.04	0.70	1.87
Frontana	3.19	0.52	1.86
Granny	3.87	0.93	2.40
Septima	3.98	1.08	2.53
Zuzana	4.35	0.83	2.59

ding and flowering (DC 59-69). Plants affected by viruses and border plants were not measured.

The principle of measuring RSS is based on the fact that the living part of the roots shows electrical activity on their membranes. The electrical interface between the internal and external environment is measured by a LCR Meter ELC-133A with a frequency of 1 kHz; the unit of measurement is nF. During the measurements one electrode is placed in the soil near the plant while the second electrode is connected to

the plant at 1 to 2 cm above the soil. The LCR Meter measured the electrical capacity of roots by passing AC in the electrical circuit between RSS and soil (CHLOUPEK 1977).

Results

Differences in RSS among varieties were observed at all test sites (Figure 2). 'Bárbaro-B' and 'Amaretto' had the biggest RSS during all measurements, except at Chlumec in 2011 (Figure 3). These two varieties had the largest RSS values during all measurements except for the heading stage in 2010 (Table 1), where 'Septima' exhibited the highest value (1,08 nF). Thereby, 'Bárbaro-B' and 'Amaretto' were identified as donors of a bigger RSS. Further experiments on RSS will be carried out on F2 and F3 plants of crosses between these two varieties. The electrical capacity can be affected by weather conditions during the vegetation period and by soil properties of the test site. Some varieties did not respond to these influences and showed

the same values of RSS across years and sites. The most stable variety in this respect was 'Frontana'.

There are many methods for the evaluation of RSS. We used a quick method which can be easily applied during the vegetation period for screening in the field. These and other results demonstrate that via electrical capacity it is possible to select genotypes with larger RSS (STREDA et al. 2009). Hence, this method can be used as secondary selection criterion in the breeding of drought tolerant varieties. Varieties with larger RSS should be more tolerant to drought and, therefore, more stable with respect to yield in years with limited rainfall.

References

- CHLOUPEK O, 1977: Evaluation of size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant Soil* 48, 525-532.
- MANSCHADIAM, CHRISTOPHER J, DEVOIL P, HAMMER GL, 2006: The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. *Funct Plant Biol* 33, 823-837.
- STREDA T, DOSTAL V, CHLOUPEK O, 2009: Slechtení a vyber odrůd obilnin s vetsy toleranci k suchu. *Uroda* 57, 10-12.

Effect of different soil moisture and meteorological conditions on the water regime of maize (*Zea mays* L.)

Jana Klimešová^{1*}, Tomáš Středa¹ and Karel Drápal¹

Abstract

Changes in the water regime of plants in response to different irrigation management were studied in a pot experiment. Stress was induced by drought and its impact was observed on the behaviour of maize. Highly significant correlation coefficients were observed between sap flow and global radiation and air temperatures, respectively. Sap flow was statistically different between irrigation regimes. Effects of global radiation, vapour pressure deficit and water deficit on sap flow were determined. Compared to field conditions soil moisture has a greater effect on sap flow in pot trials (water availability is limited by pot size).

Keywords

Air temperature, biomass, global radiation, sap flow, soil moisture, transpiration

Introduction

Soil water availability, global radiation and vapour pressure deficit are among the main determinants of plant transpiration capacity (ZEPPEL et al. 2008, DU et al. 2011, SHE et al. 2013). Daily or long term characteristics of these indicators affect plant sap flow (NAITHANI et al. 2012). If abiotic stress caused by unavailable soil water occurs - drought stress - it is possible to presume a significant effect of soil moisture on the process of transpiration. Drought stress has been a current issue in many agricultural areas due to uneven rainfall and unusually high temperatures during the growing season. Response to stress depends on its intensity and length of exposure according to the plant genotype. Based on monitoring the sap flow and meteorological values it is possible to characterise water management in plants, detect stress and rate its intensity.

Methods for the detection of sap flow are available that apply heat transmission by water contained in the xylem. These methods include the 'heat pulse method' which monitors gradual flow velocity based on a heat pulse motion in a shortly heated part of the trunk/stem. This method was published by Huber in as early as 1932 (ŠANTRŮČEK 1998). The 'thermal dissipation method' is related to the correlation between the temperature of a heated sensor and flow density (GRANIER 1985). The 'stem heat balance method' (SHB) (KUČERA et al. 1977, ISHIDA et al. 1991, LINDROTH et al. 1995) and the 'trunk sector heat balance method' (SMITH and ALLEN 1996) employ direct electrical hea-

ting of tissue and inner heat monitoring to measuring. The outcomes completed with meteorological and physiological characteristics can be used to assess individual subjects as well as forest stands and field crops canopies.

The aim of this work was (i) to identify differences in transpiration of maize plants exposed to various conditions of water supply, and (ii) to characterize the dependence of transpiration on environmental factors (air temperature, global solar radiation, soil moisture) and plant traits.

Material and Methods

A pot trial was established under natural conditions with limited rainfall. Based on physical soil analysis four variants of irrigation were run from BBCH 40 (full water holding capacity: 39%; wilting point: 21%): (A) control: 75% available water holding capacity (AWHC); (B) mild stress: 50% AWHC; (C) medium stress: 25%; and (D): significant stress: 15% AWHC (23% soil moisture). In each pot (269 dm³) 6 maize plants were sown (breeding line 2087, provided by CEZEA Čejč). Phenological data were monitored continuously and in a later phase of the trial also changes of conformation as a result of stress.

Transpiration was monitored by means of a continuous measuring of sap flow. The EMS 62 system (EMS, Brno) uses the SHB method (KUČERA et al. 1977) (Figure 1). The SHB is a non-destructive sensitive method based on physical characteristics of water. Sap flow (Q, kg·h⁻¹) was measured on two plants per pot from heading (BBCH 50) to full maturity (BBCH 89). Moreover the following meteorological variables were monitored: (i) relative air humidity (%) and air temperature (°C) in 10 min intervals by HOBO RH Temp sensors (Onset Computer Co.), (ii) volumetric soil moisture (%) by automatic electromagnetic sensors VIRRIB (AMET, Velké Bílovice) 15 min intervals, (iii) soil temperature (°C) by resistor sensors Pt100 in 15 min intervals, (iv) global solar radiation (W·m⁻²) measured by LI-COR sensors (LI-COR) in 15 min intervals, and (v) soil water potential (-bar) detected in 15 min intervals by a gypsum block connected to a MicroLog SP datalogger (EMS, Brno).

The measuring period was divided into three periods according to changes in transpiration and plant phenology (1: 27 July to 6 August; 2: 7 to 24 August; 3: 25 August to 14 September). Dependency of transpiration on natural factors (global radiation, air temperature) was assessed for each period separately so that variability of monitored features was closely recorded.

¹ Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1/1665, CZ-613 00 BRNO

* Corresponding author: Jana KLIMEŠOVÁ, jana.klimesova@mendelu.cz

Data were processed by MINI32 software (EMS, Brno) and statistically analysed, i.e. correlation analysis, analysis of variance including mean comparison by Tukey's HSD test, using STATISTICA 10 (StatSoft Inc., Tulsa, OK).

Results

Table 1 shows the strongest relationship between transpiration and air temperature and/or radiation for all irrigation treatments in period 1. During the growing season this dependency decreases most in the stressed variants. In period 3 an increase of dependency on radiation and temperature is evident in the variants of more water supply. A significant positive relation between radiation and sap flow was also observed in cassava (OGUNTUDE 2005), maize (LI et al. 2011) and soybean (GERDES et al. 1994). In trees of *Populus hopeiensis*, *P. simonii* and *Armeniaca ansu* the strongest relation was detected between sap flow and photosynthetically active radiation, at the same time a relation between sap flow and air temperature and air humidity was proved (ZHOU et al. 2008).

Dependency of sap flow on meteorological parameters decreases with increasing water stress. Non-significant correlation for variant D in period 3 are caused by a finished growing season.

Soil moisture varied only minimally in individual variants. Correlation coefficients were determined for average diurnal values of sap flow and soil moisture from the total growing season. A statistically highly significant dependence was discovered in variants C ($r=0.395^{**}$) and D ($r=0.528^{**}$).

The effect of air temperature and humidity on transpiration was also demonstrated for sagebrush (*Artemisia tridentata* var. *vaseyana*) in US semi-desert conditions (NAITHANI et al. 2012). However, these plants only showed weak dependence of transpiration on radiation values. This discrepancy with our results may be explained by different conditions in semi-desert environments where plants are not limited by lack of solar radiation. A greater share of radiation, temperature and air humidity on transpiration values in maize was shown by IRMAK and MUTIBWA (2010). Only a lesser part of variability was explained by soil moisture. A close correlation of radiation and vapour pressure deficit



Figure 1: Sap flow measurements of maize by EMS 62 sensors

versus soil moisture and type of plant was proved by sap flow measurement in *Quercus liaotungensis* and *Robinia pseudoacacia* (DU et al. 2011). A significant dependence of sap flow on soil moisture in a *Caragana korshinskii* was observed by SHE et al. (2013).

Plant sap flow capacity reached as much as 45 g of water per hour during the day. Similar maize sap flow values were observed in a pot trial by GAVLOSKI et al. (1991) and in a field trial by BETHENOD et al. (2000). KJELGAARD et al. (1997) determined an average maize transpiration value between 41 and 44 g·h⁻¹.

Significant differences among irrigation treatments were observed for diurnal sap flow (Table 2). In period 1, i.e. flowering stage, a significant difference was identified among variants A and C, D. In period 2 plant transpiration in the control variant was significantly different from the stressed variants. In period 3 a significant difference was observed between variant D and the other irrigation treatments. Even though transpiration is much dependent on the weather, a different moisture schedule caused significant differences of transpiration in individual variants. Significant differences of sap flow in grapevine of irrigated and water stressed variants were identified by ESCALONA et al. (2002). GAVLOSKI et al. (1991) observed increasing differences of sap flow between control and drought treatments of increasing water stress.

In period 1 similar sap flow was observed for variants A and B plants which decreased with time as suboptimal conditions

Table 1: Correlation of sap flow to temperature (TEMP) and global radiation (RAD) with respect to the different irrigation treatments (**, $P \leq 0.01$; *, $P \leq 0.05$)

Irrigation	Period 1		Period 2		Period 3	
	TEMP	RAD	TEMP	RAD	TEMP	RAD
A	0.934**	0.881**	0.627**	0.670**	0.665**	0.640**
B	0.862**	0.873**	0.537*	0.500*	0.674**	0.722**
C	0.902**	0.699*	0.516*	0.604**	0.681**	0.773**
D	0.698*	0.439	0.030	0.563*	0.022	0.101

Table 2: Average diurnal values of sap flow (kg·h⁻¹) per plant (Statistically different means according to Tukey's HSD test are indicated by different letters)

Irrigation	Period 1	Period 2	Period 3
A	0.01861 a	0.01044 a	0.00319 a
B	0.01290 ab	0.00668 b	0.00287 a
C	0.00701 b	0.00510 b	0.00341 a
D	0.00698 b	0.00404 b	0.00003 b

continued. In period 3 plants in variant D terminated growth due to persistent water deficit stress. DU et al. (2011) also indicated an effect of plant type and phenology on sap flow capacity. PIVEC et al. (2009) confirmed an effect of maturity and senescence on sap flow of winter rapeseed.

Sap flow measurements by SHB method has detected differences in water management in plants. Plant transpiration in period 2 affected significantly plant height ($r=0.973^{**}$). A significant effect of transpiration on maize plants height in dependence of soil moisture was also confirmed by GAVLOSKI et al. (1991). Differences in aboveground dry matter biomass were not significant. Leaf area index (LAI) reached similar values in all variants, ranging from 2.6 to 3.3. Generative organs were affected by water deficit more severely.

In period 3 dry matter accumulation was mostly impacted by transpiration. Correlation between sap flow and whole plant dry matter weight was $r=0.997^{**}$. Sap flow capacity also affected the weight of cobs ($r=0.987^{**}$). Most plants in variant D produced small or no cobs; a statistically significant difference was found between variant D and the other irrigation treatments. The influence of irrigation treatments on selected plant traits are shown in *Figure 2*.

Although plants in the control variant A (75% AWHC) were not subjected to moisture stress, they produced less than 2% higher dry matter yield compared to variant B (50% AWHC). Compared to variant C (25% AWHC) the yield was even 3% lower. Plants in variant D (15% AWHC) produced 20% lower yield. Water stress did not affect biomass production as much as was presumed according to the decrease of sap flow.

The gained results enable us to identify meteorological parameters which affect transpiration directly and thus simulate

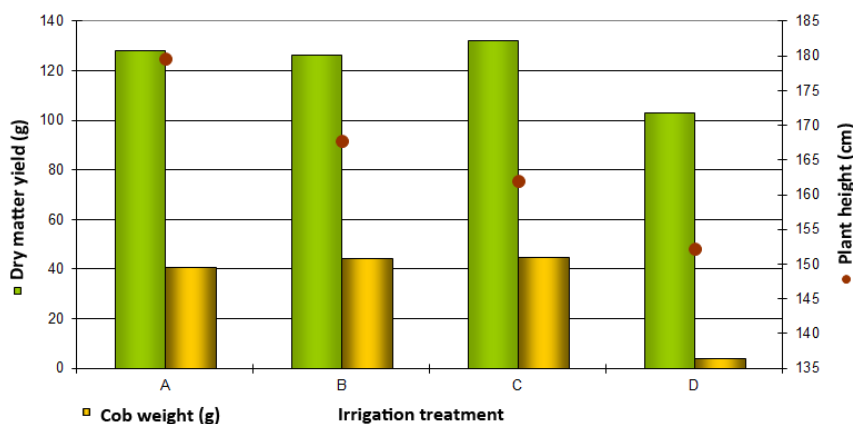


Figure 2: Selected plant traits according to irrigation regimes

the transpiration procedure in a given variety of maize. A function expressing the relation between global radiation, air temperature and sap flow was calculated for individual phenological stages. The function was derived for sap flow in non-stressed conditions.

Sap flow as per average diurnal radiation level (y) and average diurnal air temperature (x) for period 1 is described by the equation

$$z = (a+b \cdot x+c \cdot y)/(1+d \cdot x+f \cdot y)$$

where $a=-1.07 \cdot 10^{-3}$, $b=8.24 \cdot 10^{-6}$, $c=1.92 \cdot 10^{-5}$, $d=-2.79 \cdot 10^{-2}$ and $f=5.14 \cdot 10^{-5}$ ($R^2=0.977$) (*Figure 3A*).

Sap flow as per average diurnal radiation level (y) and average diurnal air temperature (x) for period 2 is described by the equation

$$z = (a+b \cdot \ln(x)+c \cdot \ln(y))/(1+d \cdot x+f \cdot y)$$

where $a=-4.03 \cdot 10^{-3}$, $b=-9.21 \cdot 10^{-4}$, $c=1.65 \cdot 10^{-3}$, $d=-2.40 \cdot 10^{-2}$ and $f=-6.06 \cdot 10^{-4}$ ($R^2=0.919$) (*Figure 3B*).

Sap flow as per average diurnal radiation level (y) and average diurnal air temperature (x) for period 3 is described by the equation

$$z = a \cdot 10^{(b/x+c \cdot y)}$$

where $a=8.29 \cdot 10^{-1}$, $b=-1.82 \cdot 10^2$ and $c=1.08 \cdot 10^{-2}$ ($R^2=0.823$) (*Figure 3C*).

Conclusions

Measurements of sap flow is one way to quantify utilization/flow of water in plants in depending on environmental factors. The 'stem heat balance' method was selected as an exact and sensitive method for sap flow detection in maize. The aim was to study the effect of selected agrometeorological variables on sap flow. At the same time the effect of water deficiency stress on sap flow was observed. Highly significant correlations were found between sap flow and global radiation and air temperature, respectively. Significant differences in sap flow were observed between irrigation regimes. Sap flow was shown to be affected by global radiation, vapour pressure deficit and water deficit. Compared to field conditions soil moisture had a greater effect on sap flow in pot trials (water availability is limited by pot size). Sap flow impacted significantly dry matter yield, cob weight and plant height of monitored plants. A significant effect of soil moisture on dry matter yield or LAI was not detected.

It is possible to anticipate further consequences of water deficit stress - effect on root system parameters and defence mechanism induction on molecular level. These mechanisms will be studied in further experiments.

Acknowledgement

This work was supported by projects of the Internal Grant Agency of Mendel University in Brno (TP 10/2012) and the Ministry of Agriculture (QJ1230056,

The impact of the expected climate changes on soils of the Czech Republic and the evaluation of their productive functions).

References

- BETHENOD O, KATERJI N, GOUJET R, BERTOLINI JM, RANA G, 2000: Determination and validation of corn crop transpiration by sap flow measurement under field conditions. *Theor Appl Climatol* 67, 153-160.
- DU S, WANG YL, KUME T, ZHANG JG, OTSUKI K, YAMANAKA N, LIU GB, 2011: Sapflow characteristics and climatic responses in three forest species in the semiarid Loess Plateau region of China. *Agric For Meteorol* 151, 1-10.
- ESCALONA J, FLEXAS J, MEDRANO H, 2002: Drought effects on water flow, photosynthesis and growth of potted grapevines. *Vitis* 41, 57-62.
- GAVLOSKI JE, WHITFIELD GH, ELLIS CR, 1992: Effect of restricted watering on sap flow and growth in corn (*Zea mays* L.). *Can J Plant Sci* 72, 361-368.
- GERDES G, ALLISON BE, PEREIRA LS, 1994: Overestimation of soybean crop transpiration by sap flow measurements under field conditions in Central Portugal. *Irrig Sci* 14, 135-139.
- GRANIER A, 1985: Une nouvelle methode pour la mesure du flux de seve brute dans le trons des arbres. *Ann Sci For* 22, 193-200.
- IRMAK S, MUTIIBWA D, 2010: On the dynamics of canopy resistance: Generalized linear estimation and relationships with primary micro-meteorological variables. *Water Resour Res* 46,
- ISHIDA T, CAMPBELL GS, CALISSENDORFF C, 1991: Improved heat balance method for determining sap flow rate. *Agric For Meteorol* 56, 35-48.
- KJELGAARD JF, STOCKLE CO, BLACK RA, CAMPBELL GS, 1997: Measuring sap flow with the heat balance approach using constant and variable heat inputs. *Agric For Meteorol* 85, 239-250.
- KUČERA J, ČERMÁK J, PENKA M, 1977: Improved thermal method of continual recording the transpiration flow rate dynamics. *Biol Plant* 19, 413-420.
- LI H, LIU Y, CAI J, MAO X, 2011: Change of sap flow rate and stem diameter microvariation of summer maize and influent factors. *Trans Chin Soc Agric Eng* 27, 187-191.
- LINDROTH A, ČERMÁK J, KUČERA J, CIENCIALA E, ECKERSTEN H, 1995: Sap flow by heat balance method applied to small size *Salix*-trees in a short-rotation forest. *Biomass Bioenerg* 18, 7-15.
- NAITHANI KJ, EWERS BE, PENDALL E, 2012: Sap flux-scaled transpiration and stomatal conductance response to soil and atmospheric drought in a semi-arid sagebrush ecosystem. *J Hydrol* 464-465, 176-185 (published corrigendum in *J Hydrol* 476, 496).
- OGUNTUNDE PG, 2005: Whole-plant water use and canopy conductance of cassava under limited available soil water and varying evaporative demand. *Plant Soil* 278, 371-383.
- PIVEC J, BRANT V, BEČKA D, 2009: The influence of weather conditions on the sap flow of *Brassica napus* L. during the fructification and maturation stages. *Ekológia* 28, 43-51.
- ŠANTRŮČEK J, 1998: Vodní režim rostlin. In: PROCHÁZKA S, MACHÁČKOVÁ I, KREKULE J, ŠEBÁNEK J (Eds.), *Fyziologie rostlin*, 52-88. Academia, Praha.
- SHE D, XIA Y, SHAO M, PENG S., YU S, 2013: Transpiration and canopy conductance of *Caragana korshinskii* trees in response to soil moisture in sand land of China. *Agrofor Syst*, in press. DOI 10.1007/s10457-012-9587-4
- SMITH DM, ALLEN SJ, 1996: Measurement of sap flow in plant stems. *J Exp Bot* 47, 1833-1844.

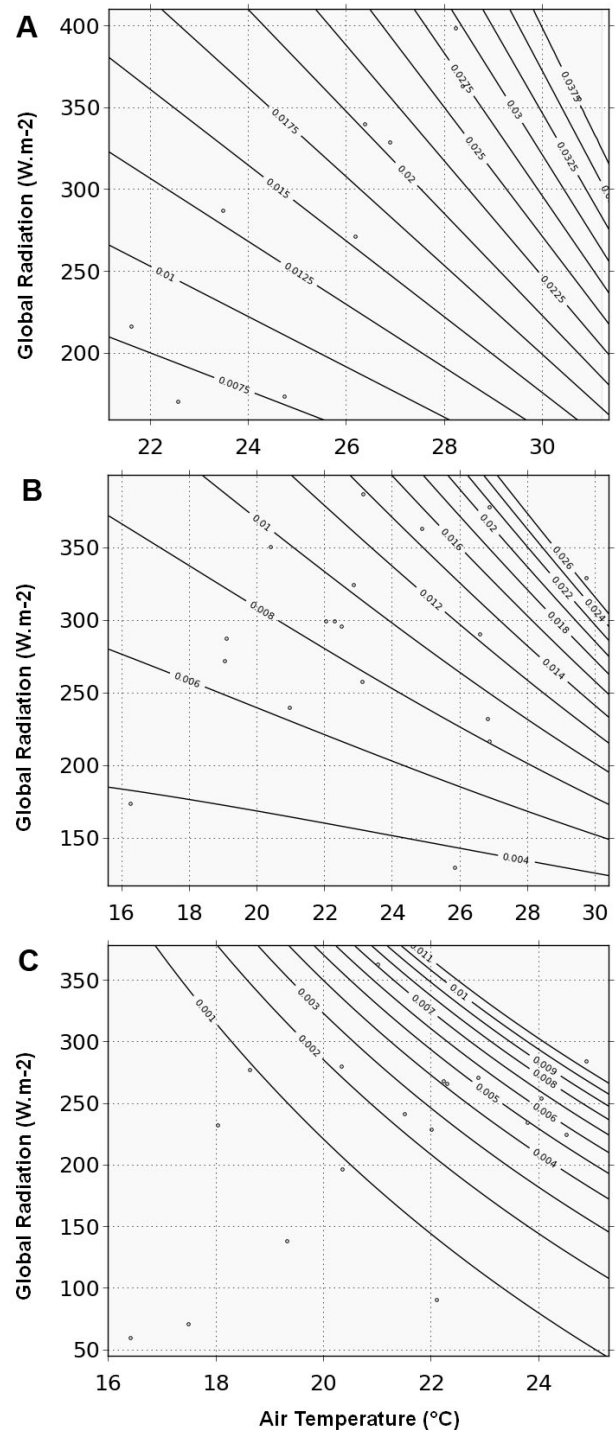


Figure 3: Simulated sap flow values ($\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$) for period 1 (A), period 2 (B) and period 3 (C)

ZEPPEL MJB, MACINNIS-NG C, YUNUSA IAM, WHITLEY RJ, EAMUS D, 2008: Long term trends of stand transpiration in a remnant forest during wet and dry years. *J Hydrol* 349, 200-213.

ZHOU HG, LIU GQ, JIAO X, WANG HZ, 2008: Water consumption by transpiration of several trees species in the Loess Plateau with mixed water and wind erosion. *Acta Ecol Sin* 28, 4568-4574.

Note: The online version of the proceedings includes figures in colour. It can be either downloaded from the homepage of the meeting (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) or requested from the corresponding author.

CORNET EFFICIENT WHEAT - Improving nitrogen efficiency in European winter wheat under drought stress

Maren Livaja^{1*}, Manuela Diethelm², Adelheid Castell¹ and Lorenz Hartl²

Abstract

EFFICIENT WHEAT is a collective research project of the Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), the Technical University of Munich, Chair of Plant Breeding (TUM), and the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL). The major aims of the project are the identification of cultivars with high yield and quality potential carrying valuable alleles for enhanced NUE which become effective under drought stress, establishing of screening techniques for nitrogen associated traits, and the development of molecular markers. A core set of 30 winter wheat genotypes bred in Austria, France, Germany, Hungary and the UK represents the elite breeding material of different European climates. These genotypes are tested over two seasons (2011-2013) in field trials at (climatic) different locations in Germany, Austria and Hungary. In addition to the field trials, greenhouse experiments are conducted to grow the plants under controlled conditions. First results of the project are presented.

Keywords

Drought tolerance, nitrogen use efficiency, *Triticum aestivum*, yield stability

Introduction

The development of cultivars with high nitrogen use efficiency (NUE), high yield stability and high baking quality even under unfavorable weather conditions is one challenge regarding the increasing risk of weather extremes like heat and persistent drought in wide regions of central and eastern Europe. EFFICIENT WHEAT is a collective research project of the Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), the Technical University of Munich, Chair of Plant Breeding (TUM), and the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL) which aims to accelerate wheat breeding by improving the existing breeding material in regard to drought tolerance and NUE without influencing yield and quality. In detail, we focus on the identification of cultivars with high yield and quality potential carrying valuable alleles for enhanced NUE which become effective under drought stress, establishing of screening techniques for nitrogen associated traits, and the development of markers for marker-assisted selection (MAS). Three different work packages are conducted: (1) phenotypic characterization

of 30 European elite winter wheat varieties as well as of a DH population derived from a cross of two contrasting varieties; (2) indirect/and direct analysis of baking quality, and (3) genotyping and marker-trait associations. The core set of 30 winter wheat genotypes bred in Austria, France, Germany, Hungary and the UK represents the elite breeding material of different European climates. Over two seasons (2011/2012 and 2012/2013) these genotypes are cultivated in field trials at (climatic) different locations in Germany, Austria and Hungary. In addition to the field trials, greenhouse experiments are conducted to grow the plants under controlled conditions.

Material and methods

During the vegetation period the following phenological data were recorded: heading date, flowering time and date of grain maturity. The percentage of yellow flag leaf area was rated every 2 to 3 weeks by visual scoring in order to estimate the progress in flag leaf senescence (FLS). This assessment was carried out by the same person for each experiment. Thousand kernel weight (TKW) was recorded as well as grain yield. Using the SPAD 502 chlorophyll meter (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) readings were repeatedly taken at the lower end of the upper third of flag leaves throughout the experiments. For each entry, the average value from 10 flag leaf measures was recorded. The relative water content (RWC) was determined by sampling 6 flag leaves per entry, weight the fresh weight (W), place them in water for at least 4 hours and weight them again after rehydration and removal of surface moisture (TW). Subsequently the samples were oven dried at 80°C for 24 h and the dry weight (DW) was estimated. Flag leaf relative water content was calculated as:

$$RWC (\%) = (W-DW)/(TW-DW) \times 100$$

Analysis of variance was performed using Plabstat software (University Hohenheim, Stuttgart, Germany).

Results

Analysis of variance showed significant effects of genotypes and treatments for all investigated traits at <0.001 (Table 1) with the exception of plant biomass at harvest. Genotype by environment (treatment) interaction effects were significant for all phenotypic data analyzed so far. Heritability for phenological data calculated across all environments

¹ Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Emil Ramann Straße 4, D-85354 FREISING

² Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85350 FREISING

* Corresponding author: Maren LIVAJA, maren.livaja@tum.de

Table 1: Variability, variance components and heritability estimates for selected phenotypic data collected in season 2011/2012 (*, $P \leq 0.001$; **, $P \leq 0.01$; *, $P \leq 0.05$)**

	HEAD ¹	GMAT	YLD	TKW	FLS	SPAD	RWC	BIOM
Minimum	134.4	188.8	47.2	38.0	0.0	8.95	58.2	0.78
Maximum	159.0	207.3	117.1	65.7	66.7	61.30	89.2	2.76
Variance components								
Genotype (G)	20.08***	9.83***	12.89***	29.45***	16.18***	8.63***	4.09***	1.55*
Environment (E)	205.28***	23.85***	11.73***	86.19***	4.15**	44.40***	18.52***	3.20*
G×E	4.68***	6.62***	3.95***	3.48***	1.62***	6.33***	1.46**	1.31*
LSD5%	1.63	2.24	6.50	1.89	6.80	5.36	2.81	0.28
Heritability	0.97	0.90	0.92	0.97	0.94	0.88	0.76	0.36

¹ HEAD, heading date; GMAT, date of grain maturity; YLD, grain yield; TKW, 1000 kernel weight; FLS, flag leaf senescence; SPAD, relative chlorophyll content estimated on flag leaves; RWC, relative water content; BIOM, biomass yield at harvest

was between 0.90 and 0.97. Heritability estimates for yield, TKW, FLS and chlorophyll content across all experiments were 0.92, 0.97, 0.94 and 0.88, respectively.

As basis for the aimed genetic association mapping, a combination of morpho-physiological trait evaluation and nitrogen analyses of wheat straw and grain are performed together with laboratory investigations of N-related genes. A limited number of candidate genes associated with N efficiency have already been identified using expression analysis in the model species maize (GALLAIS and HIREL 2004) and rice (TABUCHI et al. 2005). Also in wheat, partial sequences of genes controlling nitrogen metabolism have been identified (BOISSON et al. 2005). Using expressed sequence tag (EST)-based wheat microarrays (LU et al. 2005) showed that gene expression is significantly influenced by the amount and form of N-fertilizer. Many of the genes showing differential expression are known to participate in N metabolism and storage protein synthesis. Putative candidate genes were identified encoding enzymes involved in N assimilation and recycling (LEA and AZEVEDO 2007). These genes were present in chromosomal regions for which co-localizations between agronomic and physiological traits related to N metabolism were identified (HIREL et al. 2001, OBARA et al. 2001). Further it has been highlighted that glutamine synthetase (GS) activity is correlated to the amount of N remobilisation in kernels and grain protein content using quantitative genetic approaches (BERNARD et al. 2008, HABASH et al. 2007, KICHEY et al. 2007). Several co-localizations between QTL related to yield, physiological traits related to NUE and enzyme activities involved in the control of N assimilation and recycling were detected for nitrate reductase (NR) and glutamate dehydrogenase (GDH) in maize (HIREL et al. 2001), and proteases in barley (YANG et al. 2004). Based on these findings, candidate genes implicated

in NUE and identified from the literature will be screened for allelic variation within the 30 winter wheat genotypes (Table 2). After identification of single nucleotide polymorphism (SNP) within these gene sequences, comparative mapping will be performed using available populations.

Whole-gene Sanger-sequencing of glutamine synthetase using chromosome 2A specific primer pairs revealed two alleles of GS within our variety set. The two haplotypes correspond to GQ169687.1 and GQ169685.1 (NCBI) which were identified for 'Chinese Spring' and 'Xiaoyan54' (here one SNP was detected), respectively (Table 3). In total, 15 SNPs and one Indel of 239 bp length were detected between the START- and STOP codons. Hybrid wheat 'Hybred' wears both glutamine synthetase alleles. Unfortunately, varieties 'Format' and 'Pamier', from which our DH population derives, have the same GS allele, at least on chromosome 2A.

Table 3: Alleles of GS on chromosome 2A identified in the tested varieties

GS_2Aa (GQ169687)	GS_2Aa (GQ169685)	
Bitop	Capo	GK Szala
Brilliant	Element	Hybred
GK Hunyad	Energo	Hyland
GK Körös	Eurofit	JB Asano
Hybred	Eurojet	Komarom
Premio	Exklusiv	Midas
	Format	Pamier
	GK Bekes	Pegassos
	GK Bereny	Robigus
	GK Feny	SZD9296
	GK Kalasz	Tacitus
	GK Petur	Tiger
	GK Raba	

Table 2: Screening for allelic variation in candidate genes

Candidate gene	Species	References
NR (nitrate reductase)	Maize	HIREL et al. (2001)
NiR (nitrite reductase)	Maize	GALLAIS and HIREL (2004)
GS (glutamine synthetase)	Wheat	HABASH et al. (2007)
GDH (glutamate dehydrogenase)	Maize	GALLAIS and HIREL (2004)
ASN (asparagine synthetase)	Maize, Arabidopsis	CHEVALIER (1996), LAM (2003)
NTR (nitrate transporter)	Wheat	ZHAO (2004), YIN (2007)
TIP (tonoplast intrinsic protein)	Wheat	BERTL and KALDENHOFF (2007)

Acknowledgments

The project is financed by the German Federal Ministry of Economics and Technology (IGF 57EN/1) and coordinated by the GFP. Thanks to the following breeding companies and partners for valuable support of the project: Lantmännen SW Seed, Saatzucht Streng-Engelen, Secobra Saatzucht, KWS Lochow, Saatzucht Donau GesmbH & Co.KG, and Saatzucht Edelhof.

References

- BERNARD S, MØLLER A, DIONISIO G, KICHEY T, JAHN T, DUBOIS F, BAUDO M, LOPES M, TERCÉ-LAFORGUE T, FOYER C, PARRY M, FORDE B, ARAUS J, HIREL B, SCHJOERRING J, HABASH D, 2008: Gene expression, cellular localisation and function of glutamine synthetase isozymes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Mol Biol* 67, 89-105.
- BERTL A, KALDENHOFF R, 2007: Function of a separate NH₃-pore in aquaporin TIP2;2 from wheat. *FEBS Lett* 581, 5413-5417.
- BOISSON M, MONDON K, TORNEY V, NICOT N, LAINE AL, BAHRMAN N, GOUY A, DANIEL-VEDELE F, HIREL B, SOURDILLE P, DARDEVET M, RAVEL C, LE GOUIS J, 2005: Partial sequences of nitrogen metabolism genes in hexaploid wheat. *Theor Appl Genet* 110, 932-940.
- CHEVALIER C, BOURGEOIS E, JUST D & RAYMOND P, 1996: Metabolic regulation of asparagine synthetase gene expression in maize (*Zea mays* L.) root tips. *Plant J* 9, 1-11.
- GALLAIS A, HIREL B, 2004: An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *J Exp Bot* 55, 295-306.
- HABASH D, BERNARD S, SCHONDELMAIER J, WEYEN J, QUARRIE S, 2007: The genetics of nitrogen use in hexaploid wheat: N utilisation, development and yield. *Theor Appl Genet* 114, 403-419.
- HIREL B, BERTIN P, QUILLERE I, BOURDONCLE W, ATTAGNANT C, DELLAY C, GOUY A, CADIOU S, RETAILLIAU C, FALQUE M, GALLAIS A, 2001: Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiol* 125, 1258-1270.
- KICHEY T, HIREL B, HEUMEZ E, DUBOIS F, LE GOUIS J, 2007: In winter wheat (*Triticum aestivum* L.), post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlates with agronomic traits and nitrogen physiological markers. *Field Crop Res* 102, 22-32.
- LAM H-M, WONG P, CHAN H-K, YAM K-M, CHEN L, CHOW C-M, CORUZZI G M, 2003: Overexpression of the ASN1 gene enhances nitrogen status in seeds of Arabidopsis. *Plant Physiol* 132, 926-935.
- LEA P, AZEVEDO R, 2007: Nitrogen use efficiency. 2. Amino acid metabolism. *Ann Appl Biol* 151, 269-275.
- LU C, HAWKESFORD MJ, BARRACLOUGH PB, POULTON PR, WILSON ID, BARKER GL, EDWARDS KJ, 2005: Markedly different gene expression in wheat grown with organic or inorganic fertilizer. *Proc Roy Soc B Biol Sci* 272, 1901-1908.
- OBARA M, KAJIURA M, FUKUTA Y, YANO M, HAYASHI M, YAMAYA T, SATO T, 2001: Mapping of QTLs associated with cytosolic glutamine synthetase and NADH-glutamate synthase in rice (*Oryza sativa* L.). *J Exp Bot* 52, 1209-1217.
- TABUCHI M, SUGIYAMA K, ISHIYAMA K, INOUE E, SATO T, TAKAHASHI H, YAMAYA T, 2005: Severe reduction in growth rate and grain filling of rice mutants lacking OsGS1;1, a cytosolic glutamine synthetase1;1. *Plant J* 42, 641-651.
- YANG L, MICKELSON S, SEE D, BLAKE TK, FISCHER AM, 2004: Genetic analysis of the function of major leaf proteases in barley (*Hordeum vulgare* L.) nitrogen remobilization. *J Exp Bot* 55, 2607-2616.
- YIN L P, LI P, WEN B, TAYLOR D, BERRY J O, 2007: Characterization and expression of a high-affinity nitrate system transporter gene (TaNRT2.1) from wheat roots, and its evolutionary relationship to other NTR2 genes. *Plant Science* 172, 621-631.
- ZHAO X Q, LI Y J, LIU J Z, LI B, LIU Q Y, TONG Y P, LI J Y, LI Z S, 2004: Isolation and expression analysis of a high-affinity nitrate transporter TaNRT2.3 from roots of wheat. *Acta Bot Sin* 46, 347-354.

Einfluss von Reifeunterschieden auf das Auswuchsverhalten und die Fallzahl von Winterweizensorten

Influence of different ripening stages on pre-harvest sprouting and falling number of winter wheat cultivars

Michael Oberforster^{1*}, Anton Neumayer², Elisabeth Zechner³ und Lorenz Hartl⁴

Abstract

In order to use wheat for baking purposes, pre-harvest sprouting (PHS) of maximum 1 to 2% of the kernels is tolerated and a falling number of at least 220 s is necessary. Regarding winter wheat, tests were carried out to determine whether an intervarietal relationship exists both between the date of hard dough stage (BBCH 87) and the percentage of visibly germinated kernels, as well as between the date of hard dough stage and falling number. For this aim, results of five Austrian field trial series (2 to 7 environments) of winter wheat cultivars from 2005 to 2011 were analyzed. The series included cultivars and breeding lines from Austria, Germany, Czech Republic, France and Great Britain. On average, PHS of genotypes varied from 0.1 to 39.2% and the falling number varied from 62 to 290 s. The differences in ripening time of 3.5 to 7.5 days showed a significant correlation to PHS ($r=-0.32^*$) in only one of the five series, and to falling number in two series ($r=0.48^*$ and 0.46^{**}). The coefficient of determination (R^2) between hard dough stage and PHS ranged from 0.01 to 0.17, and between hard dough stage and falling number from 0.00 to 0.37 using polynomial curve fitting. Thus, for wheat cultivars, genotypic differences in ripening of a few days have no or marginal effect on PHS and falling number.

Keywords

Falling number, pre-harvest sprouting, ripening stage, *Triticum aestivum*

Einleitung

Mit dem Begriff „Auswuchs“ wird das Auskeimen der Körner vor der Ernte bezeichnet. Feuchte Witterung in späteren Stadien der Pflanzenentwicklung gepaart mit geringer Samendormanz sind die Hauptgründe dafür. Weichweizen (*Triticum aestivum* L.) ist in dieser Hinsicht zwar weniger gefährdet als Durumweizen, Roggen und Triticale, dennoch kann das Problem gravierende Ausmaße annehmen. Die Keimung geht mit einer erhöhten Enzymaktivität einher, welche indirekt mit der Hagberg-Fallzahl gemessen wird. Es sollte die Frage beantwortet werden, ob in Weizenversu-

chen mit einheitlichem Erntetermin frühreife Genotypen aus methodischen Gründen mehr von Auswuchs und niedrigen Fallzahlen betroffen sind.

Niedrige Fallzahlwerte und physiologische Veränderungen im Korn können auch ohne sichtbaren Auswuchs auftreten. Eine derartige *pre-maturity* α -Amylase-Aktivität (PMAA) dürfte in den analysierten Versuchen nicht bzw. nur untergeordnet vorgekommen sein.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Umwelten

Vier Serien von Winterweizen der österreichischen Sortenwertprüfung wurden analysiert. Die Parzellengröße variierte von 8,3 bis 12,8 m² (Versuche mit Ertragsserhebung, 3 bzw. 4 Wiederholungen) und von 4,0 bis 4,8 m² (Register ohne Ertragsserhebung, 2 Wiederholungen). Es handelt sich um 2 Versuche auf Bioflächen aus dem Jahr 2005 (BV 2005, 19 Genotypen), 3 Versuche aus der pannonischen Region (TG 2005, 30 Genotypen), 3 Versuche aus Feuchtlagen (FG 2006, 29 Genotypen) sowie 7 Versuche aus dem Alpenvorland Nieder- und Oberösterreichs (FG 2008, 30 Genotypen). In allen diesen Prüfungen trat Auswuchs unter natürlichen Witterungsbedingungen auf. Weiters wurde in den Jahren 2010 und 2011 die Auswuchsresistenz von 124 Winterweizen im Rahmen des Projektes *Robust Wheat* (RW) getestet (OBERFORSTER et al. 2012). Die Sortimente enthalten aktuelle und ehemals registrierte Sorten sowie Zuchtlinien aus Österreich, Deutschland, Tschechien, Frankreich und Großbritannien.

Untersuchungsmerkmale

Wenn das Endosperm von teigig-fester Konsistenz und ein Fingernageleindruck irreversibel ist, hat das Getreide die Gelbreife (BBCH 87) erreicht (WITZENBERGER et al. 1989). Zwei Drittel der Ähren von Haupthalmen müssen dieses Stadium aufweisen; es wurden Körner der Ährenmitte beprobt (BFL 2002). Zwecks vereinfachter graphischer Darstellung erhielt jeweils der frühreife Genotyp den Wert 1. Der Auswuchsgrad wurde anhand von 30-35 g Erntegut

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

² Saatzucht Donau Ges.m.b.H. & CoKG, A-4981 REICHERSBERG

³ Saatzucht Edelhof, Edelhof 1, A-3910 ZWETTL

⁴ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85350 FREISING

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

(Mischprobe von 2 bis 4 Wiederholungen) mit zweifacher Lupenvergrößerung festgestellt und die gekeimten Körner in Gewichtsprozent ausgedrückt. Die Bestimmung der Fallzahl erfolgte gemäß ICC-Standard Nr. 107/1 (ICC 2011). Die Berechnung der intervarietalen Korrelationen erfolgte mit dem Statistikpaket SPSS Vers. 16.0 (SPSS Inc., Chicago).

Ergebnisse und Diskussion

Werden Sorten unterschiedlicher Reifezeit zum selben Termin gedroschen, könnte dies einen Effekt auf den Auswuchsgrad und die Fallzahl haben. So beschrieben DERERA et al. (1976) eine signifikant negative Korrelation zwischen Frühreife und Fallzahl. Nach WEILENMANN (1976) erfordert ein großes Reifespektrum innerhalb eines Versuches eine rechnerische Korrektur der Fallzahlwerte. Auch SVENSSON (1990) weist darauf hin, dass frühzeitig reifende Sorten unter Feldbedingungen ein erhöhtes Auswuchsrisko haben. Bei feuchter Witterung und einheitlichem Erntetermin werden später reifende Sorten tendenziell bevorzugt. BAINOTTI et al. (2009) teilten das Weizensortiment deshalb in eine früh und eine spät ährenschiebende Gruppe. Hingegen fand MJAERUM (1990) in Sortenprüfungen keine relevante Beziehung zwischen den Gelbreifedifferenzen und der Fallzahl bzw. α -Amylase-Aktivität.

Die Ermittlung der sortentypischen Gelbreife ist mit einem größeren Fehler behaftet. Einerseits ist das Stadium 87 nicht so präzise definierbar wie beispielsweise Beginn und Ende des Ährenschiebens (BBCH 51 und 59). Andererseits beschleunigt oder verzögert eine Änderung der Tagestemperatur und Luftfeuchte in dieser Periode die Abreife der Pflanzen. Unterschiede in der Bodengüte innerhalb eines Versuches können die Gelbreife um mehrere Tage verschieben. Wegen der zeitlichen Nähe zum Auswuchsgeschehen ist dieses Merkmal gegenüber Ährenschiebe- oder Blühdaten dennoch zu bevorzugen. Gelbreifedaten sind nicht von sämtlichen Versuchen mit Auswuchs verfügbar; teilweise wurden Ergebnisse anderer Versuche derselben Serie einbezogen. Weil der Parameter von G×U-Wechselwirkungen weniger betroffen ist, erscheint eine solche Vorgangsweise statthaft. Genotypische Mittelwerte einer Versuchsserie sind von der Fehlerstreuung der Einzeldaten größtenteils bereinigt.

Die Sortimente zeigten eine Spannweite der Gelbreife von 3,5 bis 7,5 Tage (Tabelle 1). Bei kühler Witterung können sich die in einer Region angebauten Sorten in ihrer Reife bis zu 10 Tage unterscheiden. In den Versuchen des Projektes *Robust Wheat* differierten die früheste und späteste Sorte um 8 bis 11 Tage. Allerdings wird ein derart heterogenes Sortiment innerhalb eines Gebietes nicht kultiviert. Auswuchs

Tabelle 1: Spannweite der Mittelwerte von Tag der Gelbreife, Auswuchs und Fallzahl, und Korrelationskoeffizienten zwischen Gelbreife und Auswuchs bzw. Fallzahl in 5 Versuchsserien mit 19 bis 124 Winterweizen (2005-2011)

Table 1: Range of means of hard dough stage, PHS and falling number, and correlation coefficients between hard dough stage and PHS and falling number, respectively, in 5 trial series with 19 to 124 winter wheat cultivars (2005-2011)

Versuchsserie	n	Gelbreife Spannweite (Tage)	Auswuchs (PHS)		Fallzahl	
			Mittelwerte Genotypen (Gew.-%)	r	Mittelwerte Genotypen (s)	r
BF 2005	30	3,5	0,1-19,3	-0,37	85-290	0,48*
TG 2005	19	7,0	0,1-34,8	-0,24	75-290	0,09
FG 2006	29	5,5	1,3-39,2	0,18	62-259	-0,22
FG 2008	30	6,3	1,3-17,7	-0,32*	71-252	0,46**
RW 2011, 2012	124	7,5	1,7-33,9	0,08	65-219	-0,06

*,** signifikant bei $P < 0,05$ bzw. $P < 0,01$

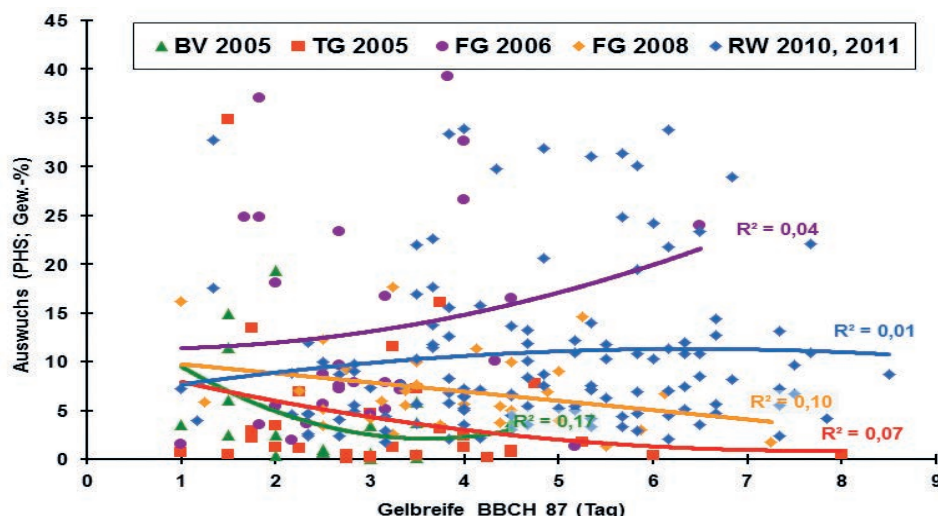


Abbildung 1: Intervarietaler Zusammenhang von Tag der Gelbreife und Auswuchs in 5 Versuchsserien (19-124 Winterweizen, jeweils Mittel aus mehreren Standorten, 2005-2011)

Figure 1: Intervarietal relationship between hard dough stage and PHS in 5 trial series (19-124 winter wheat cultivars, means determined at several locations, 2005-2011)

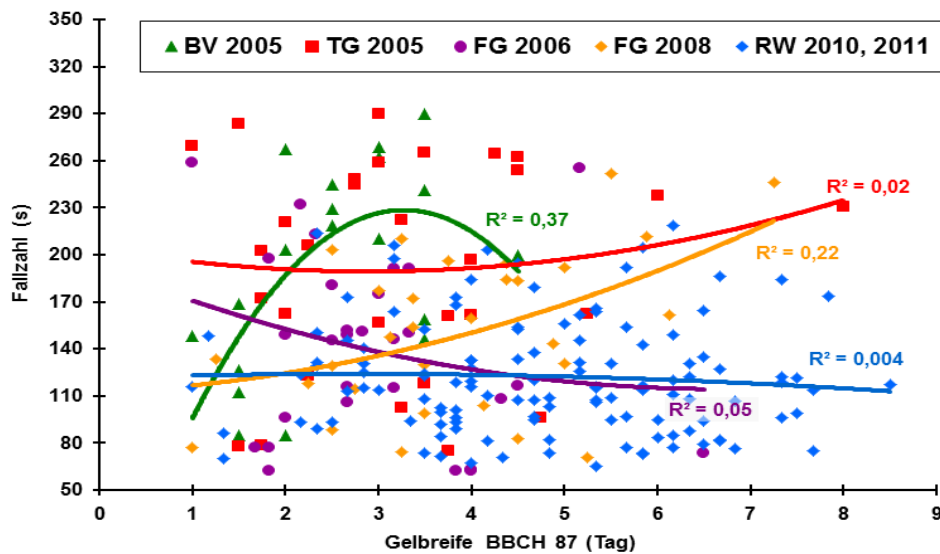


Abbildung 2: Intervarietaler Zusammenhang von Tag der Gelbreife und der Fallzahl in 5 Versuchsserien (19-124 Winterweizen, jeweils Mittel aus mehreren Standorten, 2005-2011)

Figure 2: Intervarietal relationship between hard dough stage and falling number in 5 trial series (19-124 winter wheat cultivars, means determined at several locations, 2005-2011)

und Fallzahl variierten in den fünf Serien von 0,1 bis 19% und von 85 bis 290 s (BV 2005) bzw. von 1,3 bis 39% und von 62 bis 259 s (FG 2006; Tabelle 1). In den Einzelversuchen gab es Extremwerte von 0 und 83% Auswuchs und Fallzahlen von 62 bis 424 s.

Mehrheitlich war kein signifikanter Zusammenhang von Gelbreifetage und Auswuchsgrad (Tabelle 1, Abbildung 1) bzw. Gelbreife und Fallzahl (Tabelle 1, Abbildung 2) nachweisbar. Lediglich bei den Serien BV 2005 und FG 2008 waren die Fallzahlen positiv mit dem Erreichen des Gelbreifestadiums korreliert ($r=0,48^*$ bzw. $0,46^{**}$). Im Projekt *Robust Wheat* variierten Auswuchsprozente und Fallzahlen intervarietal unabhängig von der Zeitigkeit der Reife ($r=0,08$ bzw. $-0,06$ n.s.). Ein verfälschender Einfluss genetisch unterschiedlicher Reife auf die Auswuchsneigung und Fallzahl war nicht nachweisbar oder nur schwach ausgeprägt. Bei Weizen sind Reifedifferenzen von wenigen Tagen für die Beurteilung der Auswuchsfestigkeit zumeist unbedeutend. Die Gefahr, dass frühreife und auswuchsfeste bzw. spät reifende und gegenüber Auswuchs sensitive Sorten bei einheitlichem Erntetermin nicht erkannt werden, ist relativ gering. Tritt jedoch eine Regenphase auf, wenn die Körner von späten Genotypen noch grün und milchig, jene von früh reifenden aber bereits teigig sind, ist eine abweichende Sortenreaktion zu erwarten. Zur Beurteilung der Auswuchstoleranz von Weizensorten sind Daten von mehreren Umwelten mit belastender Witterung nötig. Bei den Merkmalen Auswuchs und Fallzahl auftretende G×U-Wechselwirkungen stehen meistens nicht in Zusammenhang mit Reifedifferenzen.

Zusammenfassung

Um Weizen für Backzwecke verwenden zu können, wird normalerweise ein Auswuchs von höchstens 1 bis 2% der Körner toleriert und eine Fallzahl von mindestens 220 s vorausgesetzt. Bei Winterweizen wurde geprüft, ob eine

intervarietale Beziehung zwischen dem Gelbreifedatum (BBCH 87) und dem Prozentsatz visuell ausgewachsener Körner bzw. zwischen dem Gelbreifedatum und der Fallzahl besteht. Hierfür wurden Ergebnisse von fünf österreichischen Feldversuchsserien (2 bis 7 Umwelten) mit Winterweizen aus den Jahren 2005 bis 2011 analysiert. Diese enthalten Sorten und Zuchtlinien aus Österreich, Deutschland, Tschechien, Frankreich und Großbritannien. Im Liniennittel variierten der Auswuchs von 0,1 bis 39,2% und die Fallzahl von 62 bis 290 s. Die Reifedifferenzen von 3,5 bis 7,5 Tagen zeigten nur in einer der fünf Serien eine signifikante Korrelation zum Auswuchs ($r=-0,32^*$); bei der Fallzahl gab es zwei solcher Serien ($r=0,48^*$ bzw. $0,46^{**}$). Bei polynomischer Kurvenanpassung variierte das Bestimmtheitsmaß (R^2) zwischen Gelbreife und Auswuchs von 0,01 bis 0,17 bzw. zwischen Gelbreife und Fallzahl von 0,00 bis 0,37. Bei Winterweizen beeinflussen genotypische Reifeunterschiede von wenigen Tagen den Auswuchsgrad und die Fallzahl zumeist nicht oder nur unbedeutend.

Danksagung

Efficient phenotypic and molecular selection methods for enhancing preharvest sprouting tolerance of European wheat germplasm (Robust Wheat, CORNET Projekt 825860) wurde von der FFG (www.ffg.at), der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs und der Börse für landwirtschaftliche Produkte in Wien finanziert.

Literatur

- BAINOTTI C, CUNIBERTI M, MASIERO B, DONAIRE G, GÓMEZ D, REARTES F, SALINES J, FORMICA M, FRASCHINA J, NISI J, MIR L, BERRA O, 2009: Characterization of wheat cultivars for pre-harvest sprouting. *Agriscientia* 26, 29-33.
- BFL, 2002: Methoden für Saatgut und Sorten. Richtlinien für die Sortenprüfung. Sorten- und Saatgutblatt. Schriftenreihe 59/2002. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.

- DERERANF, McMASTER GJ, BALAAMLN, 1976: Pre-harvest sprouting resistance and associated components in 12 wheat cultivars. *Cer Res Commun* 4, 173-179.
- ICC, 2011: Bestimmung der „Fallzahl“ nach Hagberg-Perten als Maß der α -Amylase-Aktivität im Getreide und Mehl. ICC-Standard Nr. 107/1. International Association for Cereal Science and Technology, Vienna.
- MJAERUM J, 1990: The effect of agronomic characters on sprouting damage in Norwegian spring wheat. In: Ringlund K, Mosleth E, Mares DJ (Eds.), *Proc 5th Int Symp Pre-harvest sprouting in cereals*, 39-44. Westview Press, Boulder.
- OBERFORSTER M, RATZENBÖCK A, WERTEKER M, NEUMAYER A, ZECHNER E, HARTL L, 2012: Variabilität und Beziehungen von Samendormanz, Auswuchs und Fallzahl in einem Sortiment europäischer Winterweizen. Bericht 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, 61-68. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdring.
- SVENSSON G, 1990: Linkages between sprouting resistance and some agronomic traits in wheat. In: Ringlund K, Mosleth E, Mares DJ (Eds.), *Proc 5th Int Symp Pre-harvest sprouting in cereals*, 227-232. Westview Press, Boulder.
- WEILENMANN F, 1976: Beitrag zur Prüfmethode in der Züchtung auf Auswuchsfestigkeit bei Weizen (*Triticum aestivum* L.). Diss. ETH 5712. ETH, Zürich.
- WITZENBERGER A, VAN DEN BOOM T, HACK H, 1989: Erläuterungen zum BBCH-Dezimal-Code für die Entwicklungsstadien des Getreides - mit Abbildungen. *Gesunde Pflanzen* 41, 384-388.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2012) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Differences in the drought stress response of winter wheat

Eva Truhlářová^{1*}, Tereza Ryšková, Pavlína Smutná, Ludmila Holková and Jana Klimešová

Abstract

Drought tolerance of plants is a complex character, therefore, the assessment is considerably difficult. It is most often evaluated by using physiological and morphological methods, which make the assessment of mechanisms in plants that lead to their resistance possible. The intensity of plant cell protective mechanisms can be evaluated on the molecular level. In our work, the stress response was evaluated by relative water content (RWC), osmotic pressure (OP) and the relative expression of *WDHN13* and *WRAB17* genes from the *COR/LEA* group. The evaluation included 3 varieties of winter wheat grown in the Czech Republic and one Syrian line potentially highly resistant to drought. The varieties were at the same time compared for differences in the root system size by means of specific root length (SRL). The obtained results clearly indicated a relation between the expressions of both genes and the tissue water content; RWC reduction was strongly connected with changes in the genes' activity. Particularly the expression of *WDHN13* in variety Meritto increased although the tissue hydration level was only slightly reduced, which can be related to the good adaptability of this genotype to stress.

Keywords

COR/LEA genes, drought tolerance, gene expression, *Triticum aestivum*

Introduction

Drought resistance is a polygenic complex of traits, including a range of morpho-physiological and biochemical adaptations aiming not only at the survival of plants in conditions of water deficit but also at the least yield loss under conditions of drought. The selection of tolerant genotypes becomes increasingly important with respect to the predicted effects of global warming also in Central Europe, i.e. higher temperatures, lower precipitation and an uneven distribution of precipitation during the growing season (BRÁZDIL et al. 2009). These genotypes may exhibit differences in many physiological reactions such as changes in the osmotic adaptation of plants, changes in the levels of protective proteins and other metabolites, antioxidant capacity of plants, etc. Having been exposed to stress conditions, the plants show induction of a number of biochemical and physiological changes, which lead to the development of protective mechanisms aimed at the efficient utilization of available water. The most resistant genotypes

are usually those that exhibit tolerance at multiple levels at the same time (FLEURY et al. 2010). Nevertheless, for the conditions of Central Europe it makes sense to select only traits, which do not impair yield and quality of tolerant varieties (BLÁHA 2011).

The main physiological characteristic related to tolerance to repeated drought stress, which also relates to the capacity of plant's fast regeneration is osmotic adjustment (OA). Under water deficit, the plants can control osmotic pressure by accumulating osmolyte substances, which will manifest in the maintenance of turgor and higher relative water content (RWC) in leaves (IZANLOO et al. 2008). KEYVAN (2010) reported decreased RWC in wheat plants during induced stress. Detected differences between some genotypes were likely to be connected with a better capacity to absorb water from the soil or with a better possibility to prevent water losses. According to KEYVAN (2010), genotypes that are more drought-resistant have higher RWC in leaves.

Drought is connected with a water deficit in the cell and this is why accumulation of dehydrin proteins often correlates with the plant's resistance to stress conditions. Hence, dehydrin proteins could be applicable markers for drought resistance (ATIENZA et al. 2004). In recent years, the sensitivity of plants to drought is assessed also based on the expression of protective genes from the *COR/LEA* group (RAMPINO et al. 2010).

The aim of our work was to compare intervarietal differences in some physiological traits and in the expression of protective genes from the *COR/LEA* group (*WDHN13* and *WRAB17*). These could be used as selection criteria in screening varieties suitable for further breeding in dry conditions and to study responses of different genotypes to the same stress conditions.

Material and methods

Three winter wheat varieties ('Etela', 'Meritto', 'Venistar') grown in the Czech Republic and one Syrian line 142670 (S1) originating from ICARDA were chosen to compare the stress response to a sudden drought spell during the vegetative growth phase. The varieties were sown into plastic containers with large-size perlite (3 containers with 20 plants per variety). The plants were subjected to 12 hours day at 18°C and 12 hours night at 10°C until the 3-4 leaves stage. The plants were then removed from the boxes and dried on filter paper. The physiological assessment of RWC and OP was made by 11 samplings (hourly intervals). RWC was determined according to BARR and WEATHERLEY (1962) on the second youngest leaf. OP was measured by vapour

¹ Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1, CZ-613 00 BRNO, Czech Republic

* Corresponding author: Eva TRUHLÁŘOVÁ, eva.truhlarova@mendelu.cz

pressure osmometer model VAPRO 5600 (Wescor, Inc., South Logan, Utah) in the youngest parts of withering plants. Root system size was determined by digital image analysis using WinRHIZO software (Régent Instruments Inc., Quebec, Canada) after scanning of roots with an Epson perfection 700 photo scanner. The analyzed roots were subsequently surveyed for dry matter and specific root length (SRL). SRL values were calculated as the ratio of total root system length (m) / dry weight (g) (OSTONEN et al. 2007). The expression of *COR/LEA* genes was assessed during gradual wilting of plants under precisely defined conditions at 19 dates (K, control; 1, 10 min after pulling out the plant; 2, 15 min; 3, 20 min; 4, 25 min; 5, 30 min; 6, 60 min; 7, 90 min; 8, 2 h; 9, 3 h; 10, 4 h; 11, 5 h; 12, 6 h; 13, 7 h; 14, 8 h; 15, 9 h; 16, 10 h; 17, 12 h; 18, 24 h) in the second youngest leaf. RNA isolation (RNeasy Plant Mini Kit, (Qiagen, Hilden Germany) and purification (Turbo DNase-freeTM, Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX, USA) as well as synthesis of cDNA (QuantiTect[®] Reverse Transcription Kit, Qiagen, Hilden, Germany) and qPCR (quantitative polymerase chain reaction) (SybrGreen PCR Kit, Qiagen, Hilden, Germany) were conducted according to standard protocols of these commercial kits. Gene-specific primers used in the PCR were designed according known sequence AF 255053.

Wdhn13 F: 5'GCACGGTGACCACCAGCAC3'/ R: 5'TAGCGGGTCGGGCGCGGGC3'

Wrab17 F: 5'TCCATCAACTTCAAAAATG-3'/ R: 5'TGTGGTCTTCTTGGTGGCA-3'

Reaction conditions of qPCR were used according to HOLKOVÁ et al. (2009). The relative expression of genes was calculated according to PFAFFL (2001). The expression was assessed against ubiquitin as reference gene.

Results and discussion

The expression of *WDHN13* and *WRAB17* was evaluated under conditions of gradual wilting of whole plants. The two genes are activated by drought and proteins coded by these genes are involved in the protective mechanisms of plant cells against drying out (KOBAYASHI et al. 2008). Tolerant genotypes should reveal a more rapid onset or a higher level of expression of corresponding genes in dependence of stress conditions. Compared with the level of *WDHN13* gene expression, the level of *WRAB17* gene expression was relatively low and considerably fluctuating during the wilting of plants. Therefore, our attention was focused on the evaluation of *WDHN13* expression (Figure 1).

The more tolerant variety 'Meritto' exhibited an earlier activation of *WDHN13* and at the same time a high relative expression (RE) level of the gene. 'Venistar' showed only a high RE level. Similar dynamics of gene expression was observed in 'Etela' and in S1, however, RE level was lower (particularly for S1) as compared to the other varieties. Com-

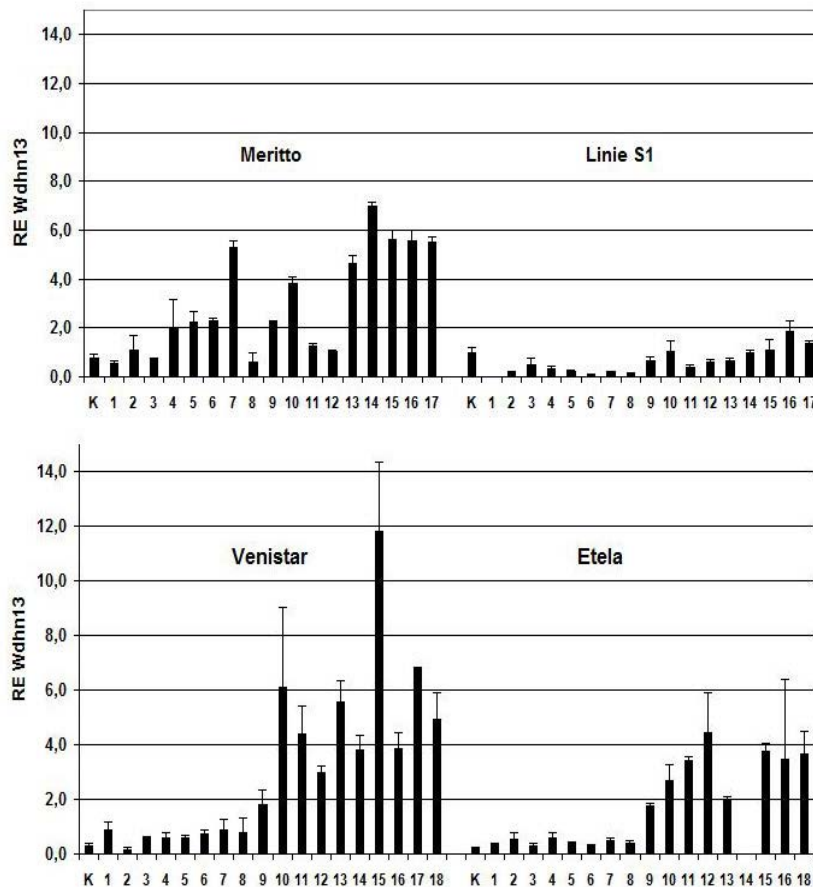


Figure 1: Evaluation of the relative expression (RE) of *WDHN13* in the course of gradual wilting of winter wheat plants. Values represent means \pm standard deviation (n=4).

Table 1: Correlation coefficients for the relationship between relative expression (RE) of *WDHN13* and *WRAB17* and relative water content (RWC) and osmotic pressure (OP), respectively, during gradual drying out of wheat plants ($P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$).**

	RE <i>WDHN13</i>	RE <i>WRAB17</i>	RE <i>WDHN13</i>	RE <i>WRAB17</i>
Venistar			Meritto	
RWC	-0.70**	-0.55*	-0.75**	-0.14
OP	-0.54*	-0.87**	-0.33	-0.05
Etela			S1	
RWC	-0.78**	-0.43	-0.81**	-0.58*
OP	-0.73**	-0.35	-0.64**	-0.65**

paring RE with RWC values (Figure 2), the earlier onset of increasing *WDHN13* gene expression in Meritto probably did not connect with the level of wilting.

The increased activity of the gene was detected at a time when the plants were still maintaining a high water content in the leaves (RWC = 90%). RAMPINO et al. (2006) recorded a similar phenomenon in durum wheat: activation of the expression of genes from the *COR/LEA* group was recorded earlier in more drought tolerant genotypes.

Why a similar mechanism was not observed in ‘Venistar’ is unclear; it is probably replaced by another protective or control mechanism if grown under natural conditions. A similar hypothesis may apply to S1 in which, however, the existence of its drought tolerance is unclear. Winter damage to the stands of this line in 2011/2012 (data not shown) indicates a generally lower tolerance to abiotic stress (frost), which would be in good agreement with the result of our experiment.

The close relation between the level of desiccation and subsequent wilting of plants expressed by RWC and OP and relative gene expression of *WDHN13* and *WRAB17* is demonstrated by statistically significant correlations (Table 1). Significant correlations between the relative expression of *WDHN13* and *WRAB17* and RWC and OP were observed for

‘Venistar’ and S1, whereas for ‘Etela’ only the correlations with *WDHN13* were significant. For ‘Meritto’ a significant correlation was found only between RWC and *WDHN13* expression. According to KAMOSHITA et al. (2008) genotypes that can keep a higher RWC are more resistant to drought. In the present experiment the highest RWC (>70%) during desiccation was observed for ‘Meritto’. SMUTNÁ and RYŠKOVÁ (2012) demonstrated that this variety shows stable yields under Czech climatic conditions. TAHARA et al. (1990) reported a positive relation between wheat grain yield and RWC measured during anthesis and mid-grain filling. Varieties with higher grain yields maintained a markedly higher RWC than low-yielding varieties. The greater decrease of RWC due to drought-induced stress is connected mainly with the capacity of more tolerant genotypes to better absorb soil water and/or with the capacity to prevent water loss through stomata (KEYVAN 2010). In our experiment the plants were pulled out from the soil. Therefore, only the second factor, i.e. transpiration control, could have been effective. Nevertheless, there could have been another factor: ‘Meritto’ showed faster development and had one leaf more at the prevalent conditions. During wilting, water from the lower leaves is transported to younger leaves, which have a smaller value of water potential. (KRPEŠ 2004). This is why ‘Meritto’ had more water available for distribution into younger parts of the plant.

According to SMUTNÁ and RYŠKOVÁ (2012) ‘Venistar’ showed good adaptation to drought conditions in long-term field trials. However, RWC of Venistar fell below 70% already within 25 minutes after the plant had been pulled out from the container (Figure 2). In the given growth stage, plants of ‘Venistar’ did not exhibit higher drought resistance compared to the other varieties. Drought-induced RWC decrease independent of drought resistance level was observed already by SCHONFELD et al. (1988). RITCHIE et al. (1990) reported that higher RWC results from either better osmotic regulation or lower elasticity of cell walls.

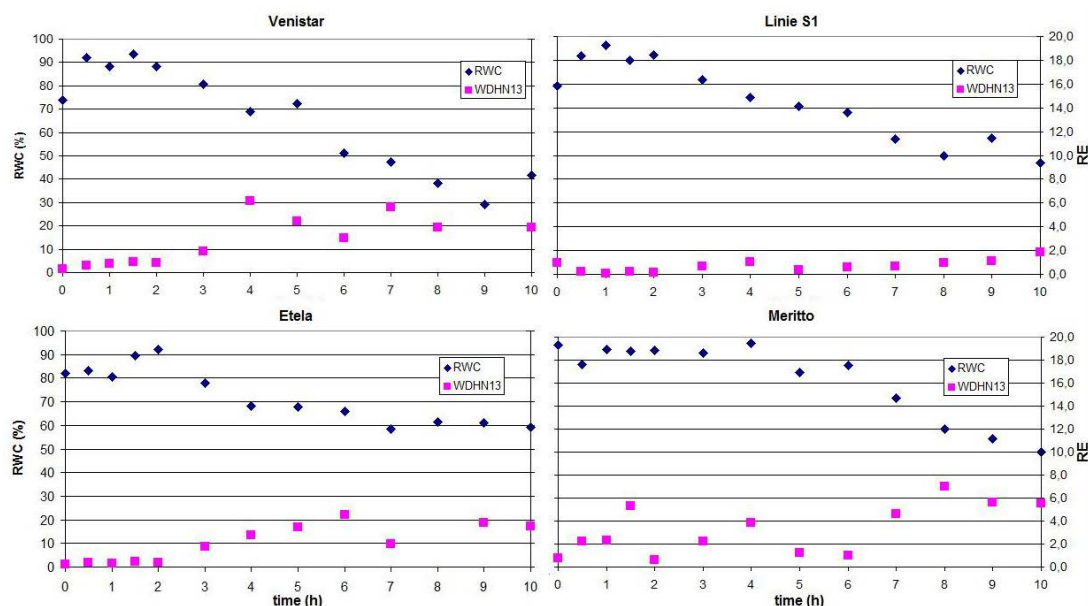


Figure 2: Relationship between relative *WDHN13* gene expression and relative water content (RWC) during evaluated over the period of gradual wilting

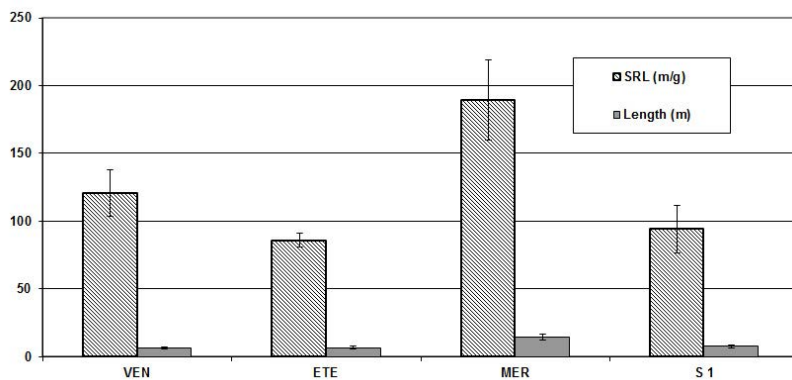


Figure 3: Specific root length (SRL) and the total root length of winter wheat (values represent means of 5 plants \pm standard deviation; VEN, Venistar; ETE, Etela; MER, Meritto; S1, Syrian line 1)

The relatively high level of *WDHN13* expression could point to a presence of other protective mechanisms that can manifest under field conditions. A part of drought adaptation mechanisms could be a higher expression of genes from the *COR/LEA* group.

The response of plants to drought stress can be affected by root system size and root architecture. *Figure 3* shows differences in the size and structure of the root systems of the tested germplasm. SRL is likely to be the most frequently assessed morphological trait expressing the architecture (fineness) of roots. SRL depends on both soil quality and genotypic effects; also genotype by environment interaction can be observed (OSTONEN et al. 2007, HAJZLER et al. 2012). Results in *Figure 3* indicate that 'Meritto' had the largest root system with the finest root hairs. Root hairs enlarge the external root surface, which results in increased absorption of water and nutrients by the plant. This property could have contributed to the observed higher biomass of 'Meritto' in the prevalent experimental conditions.

Conclusion

A clear correlation was demonstrated between the loss of water of leaf tissues and the expression of *WDHN13* and *WRAB17* genes in winter wheat. The more tolerant varieties repeatedly showed an earlier onset and/or a higher level of the expression of genes from the *COR/LEA* group. Based on the assessed parameters the most tolerant genotype was 'Meritto'. Plants of this variety maintained water in leaf tissues >70% for the longest time and showed the most rapid onset of protective response, i.e. *WDHN13* gene activation.

Acknowledgments

This study was supported by the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University, Brno, project TP 10/2012.

References

- ATIENZA SG, FACCIOLI P, PERROTA G, DALFINO G, ZSCHIESCHE W, HUMBECK K, STANCA M, CATTIVELLI L, 2004: Large-scale analysis of transcripts abundance in barley subjected to several single and combined abiotic stress conditions. *Plant Sci* 167, 1359-1365.
- BARR HD, WEATHERLEY PE, 1962: A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci* 15, 413-428.

- BLÁHA L, 2011: Znaky adaptability k podmínkám stresu u zemědělských plodin (Field crops traits of adaptability under stress conditions). In: Salaš P (Ed.), *Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu, 20-21 Oct, Lednice, Czech Republic. Úroda, vědecká příloha* 59 (10), 726-734 (in Czech, English abstract).
- BRÁZDIL R, TRNKA M, DOBROVOLNÝ P, CHROMÁ K, HLAVINKA P, ŽALUD Z, 2009: Variability of droughts in the Czech Republic, 1881-2006. *Theor Appl Climatol* 97, 297-315.
- FLEURY D, JEFFERIES S, KUCHEL H, LANGRIDGE P, 2010: Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. *J Exp Bot* 61:3211-3222.
- HAJZLER M, KLIMEŠOVÁ J, STŘEDA T, 2012: Biomass production of white mustard (*Sinapis alba* L.) varieties in relation to the root system size. Tagungsband der 62. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, 105-108. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irnding, Austria.
- HOLKOVÁ L, PRAŠIL I, BRADÁČOVÁ M, VÍTÁMVÁS P, CHLOUPEK O, 2009: Screening for frost tolerance in wheat using the expression of dehydrin genes *Wcs120* and *Wdhn13* at 17°C. *Plant Breed* 128, 420-422.
- IZANLOO A, CONDON AG, LANGRIDGE P, TESTER M, SCHNURBUSCH T, 2008: Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *J Exp Bot* 59, 3327-3346.
- KAMOSHITA A, BABU RC, BOOPATHI NM, FUKAI S, 2008: Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crop Res* 109, 1-23.
- KEYVAN S, 2010: The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J Anim Plant Sci* 8, 1051-1060.
- KOBAYASHI F, ISHIBASHI M, TAKUMI S, 2008: Transcriptional activation of *COR/LEA* genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat *DREB2* homolog in transgenic tobacco. *Transgenic Res* 17, 755-767.
- KRPEŠ V, 2004: *Ekofyziologie rostlin*. Ostravská univerzita, Ostrava, Czech Republic.
- OSTONEN I, PÜTTSEPP Ü, BIEL C, ALBERTON O, BAKKER MR, LÖHMUS K, MAJDI H, METCALFE D, OLSTHOORN AFM, PRONK A, VANGUELOVA E, WEIH M, BRUNNER I, 2007: Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosyst* 141, 426-442.
- PFÄFFL MW, 2001: A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acid Res* 29, 2002-2007.
- RAMPINO P, PATALEO S, GERARDI C, MITA G, PERROTTA C, 2006: Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell Env* 29, 2143-2152.
- RITCHIE SW, NGUYAN HT, HOLADAY AS, 1990: Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci* 30, 105-111.
- SCHONFELD MA, JOHNSON RC, CARVER BF, MORNHINWEG DW, 1988: Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci* 28, 526-531.
- SMUTNÁ P, RYŠKOVÁ T, 2012: Evaluation of stress susceptibility in winter wheat varieties using drought tolerance indices. Proceedings of the 11th Alps-Adria Scientific Workshop, 26-31 March, Smolenice, Slovakia. *Növénytermelés* 61 (Suppl. 1), 41-44.
- TAHARA M, CARVER BF, JOHNSON RC, SMITH EL, 1990: Relationship between relative water-content during reproductive development and winter wheat grain yield. *Euphytica* 49, 255-262.