

Die deutschen Sorten Dream und Bussard repräsentieren Qualitätsweizen, während die englische Sorte Lynx und der deutsche Zuchtstamm W332-84 der ertragreichen Brot- bzw. Futterweizenklasse zugeordnet werden können. Lynx ist zudem Träger des Verzweigungsallels *Rht-D1b* und der Weizen-Roggen-Translokation T1BL·1RS. Die Markerdicke der genetischen Karte der Population Dream/Lynx (SCHMOLKE et al. 2006) wurde mit Mikrosatelliten erhöht. Die Genotypisierung der Population Bussard/W332-84 erfolgte mit Diversity Arrays Technology (DArT)-Markern (AKBARI et al. 2006). Die Fallzahlen der Populationen wurden nach der Standard-Methode ICC-Nr. 107/1 (International Association for Cereal Science and Technology, Wien) aus Mischproben der Wiederholungen ermittelt. Die QTL-Analyse wurde mit der Software MultiQTL Version 2.6 (<http://www.multiqtl.com/>) durchgeführt. Hierbei gingen die Genotypdaten der Prüfumwelten als Mittelwert in das analytische Modell ein. Es wurde ein „Multiple Interval Mapping“ durchgeführt.

Ergebnisse und Diskussion

Bei Betrachtung der Genotyp-Mittelwerte über alle Umwelten konnten in der Population Dream/Lynx für das Merkmal Fallzahl drei Haupt-QTL auf den Chromosomen 1B, 6B und 7B lokalisiert werden, die 12,2%, 10,1% bzw. 19,1% der phänotypischen Varianz erklärten (Tabelle 2). Der QTL auf dem langen Arm von Chromosom 7B mit dem größten Effekt auf die Fallzahl (62 s) ist im gleichen Genomabschnitt lokalisiert wie ein QTL, der mit dem Merkmal α -Amylase-Synthese während der späten Kornreifungsphase assoziiert ist (MARES und MRVA 2008). Da die beiden Merkmale Fallzahl und α -Amylase-Synthese während der späten Kornreifungsphase eng miteinander zusammenhängen, könnte es sich um denselben funktionellen Genort auf Chromosom 7BL handeln, der diesen beiden Merkmalen zugrundeliegt. Wie bereits für Backqualitätsmerkmale, z.B. Sedimentationswert, gezeigt (BURNETT et al. 1995), konnte auch für das Merkmal Fallzahl ein negativer Effekt der Weizen-Roggen-Translokation - Verringerung der Fallzahl im Mittel um 49 s - nachgewiesen werden. Der dritte Fallzahl-QTL auf Chromosom 6B kartiert in einer Region, die mit hoher Wahrscheinlichkeit mit dem Locus *Amy-B1*, der für α -Amylasen mit hohem isoelektrischen Punkt kodiert, assoziiert ist.

In der Population Bussard/W332-84 wurden zwei Haupt-QTL auf den Chromosomen 4A und 7B für das Merkmal Fallzahl identifiziert (Tabelle 2). Wie in der Population Dream/Lynx lokalisiert der QTL auf Chromosom 7B nicht nur in der gleichen genomischen Region, sondern ist auch mit einem Mittel von 59 s derjenige mit dem stärksten Effekt auf die Fallzahl.

Unsere Untersuchungen haben gezeigt, dass LMA im deutschen Winterweizensortiment vorhanden ist, jedoch nur in einem geringen Umfang. Die Sorten Lynx und Bussard tragen mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit das für LMA ursächliche Allel auf Chromosom 7B. Während die Sorte Lynx sehr niedrige Fallzahlen aufwies, die durch das zusätzliche Vorhandensein der Weizen-Roggen-Translokation T1BL·1RS erklärt werden können, scheint der Eliteweizen Bussard diesen genetischen Defekt durch andere Genorte zu kompensieren, so dass kritische Schwellenwerte der Fallzahl i.d.R. nicht unterschritten werden.

Bei der Nutzbarmachung nicht adaptierter genetischer Ressourcen z.B. synthetischer Weizen (MRVA et al. 2009) treten immer wieder Linien mit LMA in Erscheinung, weshalb molekulare Selektionswerkzeuge entwickelt werden müssen, um diesen genetischen Defekt mittelfristig aus dem deutschen Züchtergenpool entfernen zu können.

Danksagung

Wir danken den folgenden Züchterhäusern für die tatkräftige Unterstützung bei der Durchführung des Projekts: SW Seed Hadmersleben GmbH, Fr. Strube Saatzucht GmbH & Co. KG, Saatzucht Streng GmbH & Co. KG, Saatzucht Josef Breun GbR, Saatzucht Dieckmann GmbH & Co. KG und KWS Lochow GmbH.

Weiterhin gilt unser Dank allen beteiligten Mitarbeitern der Arbeitsgruppen IPZ 2c (Züchtungsforschung Weizen und Hafer), IPZ 1b (Genomanalyse) des Instituts für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung sowie der Abteilung Qualitätssicherung und Untersuchungswesen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft.

Letztlich möchten wir uns bei der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GPZ, Projektnummer, G 116/07a) und dem Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMW, Projektnummer 16IN0577) für die Förderung des Projekts bedanken.

Tabelle 2: Signifikante ($P < 0.001$) QTL für das Merkmal Fallzahl in den Populationen Dream/Lynx and Bussard/W332-84

Table 2: Significant ($P < 0.001$) QTL for falling number in the populations Dream/Lynx and Bussard/W332-84

Chromosom	Markerintervall	Alle Umwelten			QTL-Donor ⁴
		LOD ¹	R ² (%) ²	Eff. (s) ³	
Dream/Lynx					
1B	<i>Xiag95 - Xgwm18</i>	5.1	12.2	49	Dream
6B	<i>XP7548-438 - XP7851-350</i>	4.9	10.1	45	Dream
7B	<i>XS2515-270 - XS2524-502</i>	8.8	19.1	62	Dream
Bussard/W332-84					
4A	<i>XwPt3349 - XwPt5434</i>	3.4	13.4	35	332-84
7B	<i>XwPt5069 - XwPt4902</i>	8.6	38.3	59	332-84

¹ LOD-Wert, *logarithm of odds-value*

² erklärter Anteil der phänotypischen Varianz

³ additive Alleleffekte der QTL in Sekunden

⁴ Donor des Allels, das zu einer höheren Merkmalsausprägung führt

Literatur

- AKBARI M, WENZL P, CAIG V, CARLING J, XIA L, YANG S, USZYNSKI G, MOHLER V, LEHMENSIEK A, KUCHEL H, HAYDEN MJ, HOWES N, SHARP P, VAUGHAN P, RATHMELL B, HUTTNER E, KILIAN A, 2006: Diversity arrays technology (DArT) for high-throughput profiling of the hexaploid wheat genome. *Theor Appl Genet* 113: 1409-1420.
- BURNETT CJ, LORENZ KJ, CARVER BF, 1995: Effects of the 1B/1R translocation in wheat on composition and properties of grain and flour. *Euphytica* 86: 159-166.
- MARES DJ, MRVAK, 2008: Late-maturity α -amylase: low falling number in wheat in the absence of preharvest sprouting. *J Cereal Sci* 47: 6-17.
- MRVA K, CHEONG J, YU B, LAW HY, MARES DJ, 2009: Late maturity α -amylase in synthetic hexaploid wheat. *Euphytica* 168: 403-411.
- SCHMOLKE M, ZIMMERMANN G, BUERSTMAYR H, SCHWEIZER G, MIEDANER T, KORZUN V, EBMEYER E, HARTL L, 2005: Molecular mapping of Fusarium head blight resistance in the winter wheat population Dream/Lynx. *Theor Appl Genet* 111: 747-756.
- TJIN WONG JOE AF, SUMMERS RW, LUNN GD, ATKINSON MD, KETTLEWELL PS, 2005: Pre-maturity α -amylase and incipient sprouting in UK winter wheat, with special reference to the variety Rialto. *Euphytica* 143: 265-269.

Warum sind Steinbrand und Zwergsteinbrand derzeit nicht nur im ökologischen Getreidebau ein Problem?

Why cause common bunt and dwarf bunt of wheat not only problems in organic farming?

Benno Voit¹*, Markus Dressler und Berta Killermann

Abstract

Dwarf and common bunt occurrence on organic wheat fields increase the spore potential in the soil - this could have been measured the first time ever. The spore potential in the soil is a latent hazard for the infestation of further wheat crops. Years without bunt infestation do not exist: slight and scarcely observable infestation always occurs in further wheat crops, whereas, high infestation rates only occur under certain weather conditions. A considerable decrease of infestation risk on organic fields should be reached by breeding and cultivation of tolerant and/or resistant varieties. In conventional farming protection against dwarf bunt of wheat decreased significantly after banning mercurial seed dressings. Currently only Landor CT[®] has lasting effects against this fungus. Since so far only 50% of wheat seeds have been treated with this chemical the spore potential in the soil has significantly increased in recent years, as the high infestation rate in 2011 has shown. Even by using Landor CT[®] you have to take care upon the prescribed application rate and consistent treatment. Problems with common bunt of wheat are less important in conventional farming because all chemical seed treatments act against common bunt. Moreover, only a few conventional farmers refrain from using chemical seed treatment completely.

Keywords

Chemical seed treatment, organic farming, seedborne disease, soilborne disease, spore potential, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*, *Triticum aestivum*

Einleitung

Eigentlich glaubte man, dass Brandkrankheiten ausgestorben seien. Doch die vergangenen Jahre haben uns eines Besseren belehrt. So sind derzeit Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) und Steinbrand (*Tilletia caries*) die gefürchtetsten Krankheiten im ökologischen Weizenanbau. Wenn Befall vorliegt, ist die Ware häufig unbrauchbar und damit mit hohen finanziellen Verlusten verbunden. Auch im konventionellen Landbau war der Befall mit Zwergsteinbrand noch nie so hoch wie 2011. Zur Beantwortung der Frage warum das so ist, kann zum Großteil auf die Ergebnisse des

Forschungsprojektes „Erarbeitung von Schwellenwerten zur wirksamen Bekämpfung von Zwergsteinbrand und Steinbrand sowie deren praktische Umsetzung im Öko-Landbau“, zurückgegriffen werden (DRESSLER et al. 2011).

Methodik und Ergebnisse

Zwergsteinbrand

Die Versuche wurden in Bayern, Baden-Württemberg und Österreich auf Öko-Praxisflächen durchgeführt, die bereits ein Brandsporenpotenzial im Boden aufgewiesen haben. Die mehrfaktorielle Anlage der Feldversuche erfolgte als randomisierte Streifenanlage, mit einer Parzellengröße von 10-13 m². Angebaut wurde jeweils eine anfällige Winterweizen- und Dinkelsorte sowie eine weniger anfällige Sorte mit unterschiedlichen Saatgutinfektionen (Kontrolle, 20 und 100 Sporen/Korn) und vier Wiederholungen. Da die Zwergsteinbrandinfektion nahezu ausschließlich über das Sporenpotenzial des Bodens erfolgt, wurde zusätzlich eine Variante mit künstlicher Bodeninfektion (0,5 g Sporen/m³) angelegt.

Nach dem Ährenschieben wurde jede Parzelle auf befallene Ähren bonitiert. An der geernteten Ware erfolgte die Bestimmung der Brandsporen entsprechend der ISTA Methode (Working Sheet No 53, Handbook on Seed Health Testing). Da es für die Bestimmung des Sporenpotenzials im Boden keine Untersuchungsmethode gab, musste dafür erst ein Untersuchungsverfahren entwickelt werden. Als geeignet erwies sich das Auswaschen der Sporen aus dem Boden mittels Nassfiltration und anschließender Bestimmung nach ISTA unter dem Lichtmikroskop.

Die Hauptinfektion bei Zwergsteinbrand findet über den Boden während der Bestockung statt, d.h. im Zeitraum November bis März. Die optimale Keimtemperatur für die Brandsporen liegt bei 0-5°C. Diese Idealbedingungen herrschten im Herbst 2008 auf dem Standort in Baden-Württemberg vor. Im November fiel Schnee auf nicht gefrorenen Boden und der Schnee blieb bis März liegen. Zusammen mit dem Licht unter der Schneedecke waren die Bedingungen für die Keimung der Brandsporen und den Befall der jungen Weizenpflanzen optimal. Mit über 11500 Sporen/Korn am Erntegut war dies der höchste Befall in den drei Jahren an einem Standort (*Tabelle 1*).

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, AG Saatgutuntersuchung/Saatgutforschung, Lange Point 6, D-85354 FREISING
* Ansprechpartner: Benno VOIT, benno.voit@lfl.bayern.de

Tabelle 1: Besatz mit Zwergsteinbrand am Erntegut auf dem Standort Baden-Württemberg, sowie das Sporenpotenzial im Boden nach der Saat und nach der Ernte (2009)

Behandlung	Sporen pro Korn am Erntegut	Sporen in 10 g Boden	
		nach der Saat	nach der Ernte
Kontrolle	8300	152	7112
Bodeninfektion	11571	80	29376
20 Sporen/Korn	2391	87	7676
100 Sporen/Korn	1966	29	4374

Erwartungsgemäß hatte die Variante Bodeninfektion den höchsten Befall. Dies konnte auch auf den anderen Standorten und in den anderen Versuchsjahren beobachtet werden. Zwischen den beiden Saatgutinfektionsstufen 20 und 100 Sporen/Korn zeigte sich in keinem Jahr und auf keinem Standort ein signifikanter Befallsunterschied am Erntegut.

In den anderen Jahren und Versuchsstandorten waren keine Befallsbedingungen gegeben. Entweder war der Boden gefroren oder es war ein schneeloser Winter wie 2007. Trotzdem trat in jedem Jahr und auf jedem Standort ein leichter Befall auf, der jedoch schwer wahrzunehmen ist. Das heißt es gibt keine befallsfreien Jahre. Der Befall am Erntegut war gering, so dass die Verwertung der Ware nicht beeinträchtigt wurde (Tabelle 2).

Tabelle 2: Durchschnittlicher Besatz mit Zwergsteinbrand am Erntegut auf dem Standort Bayern, sowie das Sporenpotenzial im Boden nach der Saat und nach der Ernte (2008-2010)

Behandlung	Sporen pro Korn am Erntegut	Sporen in 10 g Boden	
		nach der Saat	nach der Ernte
Kontrolle	61	93	128
Bodeninfektion	2837	608	2678
20 Sporen/Korn	87	79	526
100 Sporen/Korn	260	89	257

Umso überraschender war daher die deutliche Zunahme des Brandsporenpotenzials im Boden. Damit wurde klar, dass beim Mähdrusch mehr Brandsporen wieder auf das Feld gelangten, als im Erntegut festgestellt wurden. Lag vor der Aussaat das Sporenpotenzial im Boden bei unter 100 Sporen in 10 g Boden, so war das Potenzial nach der Ernte selbst bei einem geringen Befall jeweils deutlich über 100 Sporen in 10 g Boden. In einem Jahr mit starkem Befall, wie 2009 in Baden-Württemberg, hat das Sporenpotenzial im Boden von ca. 100 Sporen auf über 29000 Sporen in 10 g Boden zugenommen. Dieses enorme Infektionspotenzial im Boden, das bei Zwergsteinbrand 10 Jahre und länger infektiös bleibt, wird von der Praxis nicht wahrgenommen und für den nachfolgenden Weizenanbau im Rahmen der Fruchtfolge völlig außer Acht gelassen. Die schnelle bzw. langsame Zunahme des Sporenpotenzials im Boden muss, je nach Befallsituation, dringend unterbunden werden. Dazu ist es notwendig, dass nur geprüftes Saatgut ausgesät wird, um das Sporenpotenzial im Boden gering zu halten. Darauf muss in Zukunft in der Praxis mehr geachtet werden.

In den Versuchen haben sich zwischen der anfälligen Sorte und der weniger anfälligen Sorte keine signifikanten Unterschiede in der Befallshöhe am Erntegut gezeigt. Auch zwischen Weizen und Dinkel zeigten sich keine signifikanten

Unterschiede in der Anfälligkeit. Da im Projekt nur zwei Sorten bearbeitet werden konnten und die Beschreibende Sortenliste des Bundessortenamtes keine Auskunft über die Brandanfälligkeit der Sorten gibt, wurde im letzten Jahr ein Sortenanfälligkeitsversuch durchgeführt (BSA 2011). Von den 21 Sorten, die auf zwei Standorten zum Anbau kamen, war keine Sorte völlig befallsfrei. Es zeigten sich aber sehr deutliche Unterschiede in der Anfälligkeit der Sorten. Falls sich die Ergebnisse im nächsten Jahr bestätigen, besteht mit der entsprechenden Sortenwahl ein gutes Regulativ den Befall am Erntegut und das Sporenpotenzial im Boden gering zu halten.

Noch mehr überrascht als die Biobetriebe sind die konventionellen Betriebe bei einem Befall mit Zwergsteinbrand, da diese Betriebe chemische Beizmittel verwenden dürfen. Doch genau darin liegt das Problem. Bis 1980 war die Beizung mit quecksilberhaltigen Mitteln Standard. Die Wirkung dieser Beizmittel gegen Zwergsteinbrand war hervorragend. Seit mittlerweile mehr als 30 Jahren sind die Quecksilberbeizmittel verboten. Die quecksilberfreien Beizmittel sind in der Wirkung mit den quecksilberhaltigen Mitteln nicht vergleichbar. Derzeit hat nur das Beizmittel Landor CT® eine Wirkung gegen Zwergsteinbrand. Damit erklärt sich, warum der Befall nicht nur in Biobetrieben, sondern auch in konventionellen Betrieben mit chemischer Beizung auftritt (KILLERMANN und VOIT 2011a). In Bayern wurden bisher ca. 50% des Weizensaatgutes mit Landor CT® gebeizt. Die restlichen 50% des ausgesäten Weizensaatgutes verfügten über keinen Schutz gegen Befall mit Zwergsteinbrand. Von daher ist es nachvollziehbar, dass sich in den vergangenen 30 Jahren ein Infektionspotenzial im Boden aufgebaut hat. Hinzu kommt, dass es keine befallsfreien Jahre gibt, wie die Versuchsergebnisse gezeigt haben. Das Auftreten von Zwergsteinbrand war früher eher regional begrenzt und konzentrierte sich auf Bayern, Baden-Württemberg, Schweiz und Österreich. In diesem Jahr wurde auch in Thüringen, Sachsen, Sachsen-Anhalt sowie Hessen Befall festgestellt. Dazu passt die Beobachtung, dass Zwergsteinbrand heute bereits in 400 m NN auftritt, während früher Zwergsteinbrand nur in Höhenlagen über 1000 m NN zu finden war. Mit dem früher nur regionalen Auftreten von Zwergsteinbrand lohnte es sich für die Beizmittelhersteller nicht, Präparate zu entwickeln, die auch eine Zwergsteinbrandwirkung haben. Zukünftig wird sich das vermutlich ändern.

Sehr oft wurde die Frage gestellt, warum 2011 ein so starkes Befallsjahr war? Der Grund dafür ist eine ganz seltene Witterungskonstellation. Ende November 2010 ging der Regen nahtlos in Schnee über. Die Schneedecke wuchs täglich und blieb bis kurz vor Weihnachten liegen. Unter der Schneedecke auf dem offenen, nicht gefrorenen Boden entstanden ideale Keim- und Lichtverhältnisse für die Brandsporen im Boden und den Befall des Weizens (KILLERMANN und VOIT 2011b). Wäre vor dem Schneefall der Boden gefroren gewesen oder die Schneedecke nur ein paar Tage liegen geblieben, wie es meist der Fall ist, hätte dies nur zu einem geringen Befall geführt.

Wenn die Infektion gesetzt ist, wächst sie mit der Pflanze hoch. Der Befall ist zunächst nicht sichtbar. In der Literatur spricht man zwar von Blattaufhellungen, in der Praxis ist es aber schwierig den Befall im 3-8 Blattstadium zu erkennen.

Eindeutig ist die Bestimmung ab dem Ährenschieben. Von Zwergsteinbrand befallene Pflanzen bleiben kürzer und die Ährchen sind vor der Reife gespreizt. In den Ähren bilden sich anstelle der Körner Brandbutten.

Biobetriebe mit Zwergsteinbrandbefall, stellen häufig die Frage wie lange mit dem Weizenanbau ausgesetzt werden soll bzw. wie lange die Brandsporen im Boden infektiös bleiben. Eine genaue Angabe von Jahren ist derzeit nicht möglich. In der Literatur werden 10 und mehr Jahre für die Infektionsfähigkeit der Brandsporen genannt. Nach unseren Beobachtungen in Befallsbetrieben hat sich das auch bestätigt. Ob die Lebensfähigkeit der Brandsporen durch die Bewirtschaftung beeinflusst werden kann, wird derzeit in einem weiteren Forschungsprojekt erarbeitet. Einfacher ist die Situation bei den konventionellen Betrieben. Durch eine Beizung mit Landor CT® lässt sich der Befall vermeiden. Allerdings ist wichtig, dass die Aufwandmenge eingehalten und das Beizmittel gleichmäßig auf alle Körner verteilt wird. Ein Nichteinhalten dieser Vorgaben führt zu einer Wirkungsminderung und damit zu einem Befall.

Steinbrand

Der (Gewöhnliche) Steinbrand ist ebenfalls eine Brandkrankheit bei Weizen. Genau wie bei Zwergsteinbrand bilden sich in den Ähren anstatt der Körner die Brandbutten. Bei starkem Befall ist die Ware schwarz, riecht nach Heringslake und ist damit unbrauchbar (KILLERMANN und VOIT 2011c). Beide Krankheiten werden sowohl in der Praxis als auch in der Beratung immer wieder miteinander verwechselt. Dabei sieht das Befallsbild im Feldbestand bei Steinbrand anders aus. Die befallenen Pflanzen haben nahezu die gleiche Länge als die gesunden Pflanzen und sind daher mit Zwergsteinbrand nicht zu verwechseln. Im Unterschied zu Zwergsteinbrand erfolgt die Infektion bereits während der Keimung des Weizens. Wie beim Zwergsteinbrand wurden auch beim Steinbrand mehrjährige und mehrortige Feldversuche durchgeführt. Dabei zeigte sich ganz deutlich, dass auch beim Steinbrand eine Infektion vom Boden aus erfolgen kann (Tabelle 3).

So wurde auf dem Standort in Bayern 2008 in der Kontrollparzelle ein Befall mit 13739 Sporen/Korn festgestellt. Im Vergleich dazu war der Befall am Standort Sachsen mit 314 Sporen/Korn deutlich niedriger. Günstige Befallsbedingungen liegen vor, wenn nach der Saat der Boden über einen längeren Zeitraum trocken bleibt und die Keimung sehr langsam vorangeht. Diese Witterung traf auf dem bayerischen Versuchsstandort zu. Nach der Saat fiel mehr als 2 Wochen kein Regen, dies führte zu einem hohen Befall der zwischen 13739 und 21442 Sporen/Korn lag. Über alle Versuchsorte und -jahre zeigte sich, dass der Befall umso

höher war, je stärker das ausgesäte Saatgut bereits mit Brandsporen befallen war. Dies unterstreicht, wie wichtig die Kenntnis der Befallshöhe des ausgesäten Saatgutes ist. Auf dem Standort in Sachsen waren die Auflaufbedingungen günstig. Bereits 5 Tage nach der Saat fiel Regen und der Weizen lief zügig auf. Der Weizen wuchs dem Pilz davon, deshalb lag der Befall nur zwischen 299 und 526 Sporen/Korn, obwohl im Boden ein Sporenpotenzial von über 1000 Sporen in 10 g Boden vorlag. Wie bei Zwergsteinbrand wurde auch bei Steinbrand das Sporenpotenzial im Boden nach der Ernte untersucht. Auch hier zeigt sich je nach Befallshöhe im Erntegut eine entsprechende Zunahme des Sporenpotenzials im Boden nach der Ernte. Auf dem Standort Bayern lag zum Saatzeitpunkt des Weizens das Sporenpotenzial bei unter 100 Sporen in 10 g Boden (Tabelle 3). Nach der Ernte wurden deutlich mehr als 100 Sporen in 10 g Boden festgestellt. Auf dem Standort in Sachsen nahm das Sporenpotenzial nach der Ernte sogar ab.

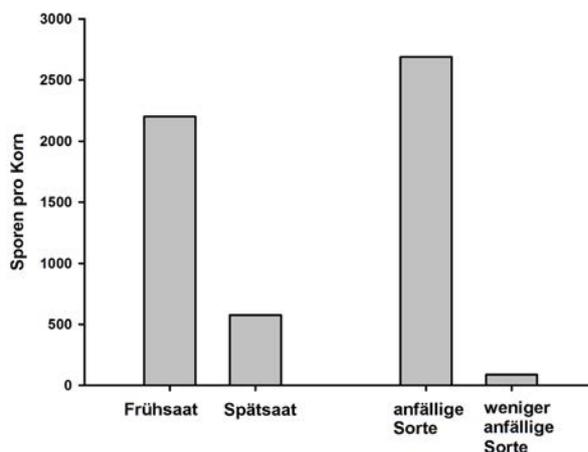


Abbildung 1: Durchschnittlicher Besatz mit Steinbrand am Erntegut von allen Standorten bei Fröhsaat bzw. bei anfälliger und weniger anfällige Sorte

Die Gründe dafür sind, dass zum einem der Befall auf dem Standort deutlich geringer war und zum anderen das hohe Ausgangssporenpotenzial im Boden aus dem Jahr 2006 herührte. Es zeigt sich, dass nach 2 Jahren bereits ein Teil der Brandsporen nicht mehr nachweisbar ist. Dieses Ergebnis stimmt gut überein mit den Angaben in der Literatur, in der von einer Infektionsfähigkeit der Brandsporen von 3 bis 6 Jahren berichtet wird. Nachdem bei Steinbrand die Infektion bereits bei der Keimung erfolgt, stellt sich die Frage, ob der Saatzeitpunkt einen Einfluss auf den Befall hat. Die Ergebnisse aus den Feldversuchen zeigen, dass das Erntegut aus der Fröhsaat Anfang Oktober mit durchschnittlich 2201 Sporen/Korn einen viermal so hohen Befall aufwies, als

Tabelle 3: Durchschnittlicher Besatz mit Steinbrand am Erntegut auf den Standorten Bayern und Sachsen sowie das Sporenpotenzial im Boden nach der Saat und der Ernte (2007/08)

Behandlung	Sporen pro Korn am Erntegut		Sporen in 10 g Boden			
	Bayern	Sachsen	nach der Saat		nach der Ernte	
			Bayern	Sachsen	Bayern	Sachsen
Kontrolle	13739	314	22	1281	209	841
20 g Sporen pro Korn	14760	526	72	1209	188	1044
100 g Sporen pro Korn	21442	299	51	1807	127	461

die Ernteware der Spätsaat Ende Oktober (*Abbildung 1*). Einen noch stärkeren Einfluss auf das Befallsgeschehen als die Saatzeit hat die angebaute Sorte. In den Feldversuchen kam jeweils eine anfällige und weniger anfällige Sorte zum Anbau. Im Durchschnitt der Versuchsjahre und -orte hatte die anfällige Sorte einen Befall von 2690 Sporen/Korn. Demgegenüber wies die weniger anfällige Sorte einen Befall von nur 87 Sporen/Korn auf.

Mit der entsprechenden Sortenwahl verfügt der Landwirt über ein sehr gutes Instrument den Befall niedrig zu halten. Da die Beschreibende Sortenliste keine Auskunft über die Steinbrandanfälligkeit der Sorten gibt und in den Feldversuchen nur 2 Sorten getestet werden konnten, wurde auch hier mit Sortenanfälligkeitsversuchen begonnen. Erste Ergebnisse liegen vor und zeigen sehr unterschiedliche Anfälligkeiten. Die Sorte mit dem höchsten Befall wies 10800 Sporen/Korn auf. Sorten völlig ohne Befall konnten nicht beobachtet werden, der Befall der weniger anfälligen Sorten lag aber unter 50 Sporen/Korn. Interessant dabei ist, dass es sich fast durchwegs um neuere Sorten aus ökologischer Züchtung handelt. Da in den Sortenversuchen das 3. Jahr noch fehlt, werden die Sortennamen noch nicht veröffentlicht.

Steinbrand bereitet den konventionellen Betrieben nur wenig Probleme, da alle Beizmittel eine Steinbrandwirkung haben. Probleme treten auf, wenn Beizmittelaufwandmengen reduziert werden oder die Beizmittelverteilung auf den Körnern sehr ungleichmäßig und ein Teil der Körner völlig ungebeizt ist. Auch für die ökologisch wirtschaftenden Betriebe besteht die Möglichkeit der Saatgutbehandlung bei Steinbrandbefall. Allerdings ist der Wirkungsgrad nicht vergleichbar mit den chemischen Beizmitteln. In ungünstigen Jahren liegt der Wirkungsgrad bei nur ca. 65%. Dies ist u.a. auch der Grund dafür, dass der Befall am zu behandelnden Saatgut nicht über 100 Sporen/Korn liegen soll. Der Befall lässt sich damit nicht ganz vermeiden, aber zumindest reduzieren.

Zusammenfassung

Ökologische Betriebe

Wenn in einem Betrieb Zwergsteinbrand oder Steinbrand aufgetreten ist, führt das zu einer Zunahme des Sporenpotenzial im Boden, wie erstmals nachgewiesen werden

konnte. Das Sporenpotenzial im Boden stellt ein latentes Befallsrisiko für den weiteren Weizenanbau dar, das aber in der Praxis völlig außer Acht gelassen wird. Befallsfreie Jahre gibt es bei Brandkrankheiten nicht, d. h. leichter, kaum wahrnehmbarer Befall tritt bei jedem Weizenanbau auf. Hoher Befall tritt dagegen nur bei passenden Witterungsbedingungen auf. Die Fortschritte in der Weizenzüchtung lassen hoffen, dass mit toleranten oder resistenten Sorten der Befall mit Brandkrankheiten deutlich abnimmt.

Konventionelle Betriebe

Mit dem Verbot der quecksilberhaltigen Beizmittel ist der Schutz gegen Zwergsteinbrand deutlich schwächer geworden, da derzeit nur ein Beizmittel (Landor CT®) gegen Zwergsteinbrand wirkt. Bisher wurden nur ca. 50% des Saatweizens mit Landor CT® gebeizt, deshalb hat sich in den vergangenen Jahren in vielen Böden ein Infektionspotenzial aufgebaut. Bei passender Witterung führt das zu einem hohen Befall wie es das Jahr 2011 gezeigt hat. Selbst bei der Beizung mit Landor CT® ist unbedingt auf die vorgeschriebene Aufwandmenge und gleichmäßige Beizung aller Körner zu achten, da sonst Wirkungsverluste auftreten und in Folge davon wiederum Befall auftritt. Beim Steinbrand ist das Problem deutlich geringer, da alle Beizmittel eine Steinbrandwirkung haben und es nur wenige Betriebe gibt, die auf eine Beizung völlig verzichten.

Literatur

- DRESSLER M, VOIT B, BÜTTNER P, KILLERMANN B, 2011: Mehrjährige Ergebnisse zur Strategie gegen Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) und Steinbrand (*Tilletia caries*) im Ökologischen Getreidebau. VDLUFA Schriftenreihe 67, in Druck.
- BSA, 2011: Beschreibende Sortenliste. Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte. Bundessortenamt, Hannover.
- KILLERMANN B, VOIT B, 2011a: Stinkende Weizenkörner - Schon vergessene Krankheiten kommen zurück. Bayerisches Landwirtschaftliches Wochenblatt, Heft 33, 36-37.
- KILLERMANN B, VOIT B, 2011b: Zwei fast überwundene Krankheiten kehren zurück. Newsletter des Gemeinschaftsfonds Saatgetreide 04/2011.
- KILLERMANN B, VOIT B, 2011c: Die schwarze Gefahr - Zwergsteinbrand und Steinbrand kehren zurück. Landwirtschaftliches Wochenblatt Baden-Württemberg, 178. Jhg., Heft 34, 12-13.

Erkennung technologischer und allergener Eigenschaften an Hand von Proteinspektren in Getreide

Recognition of technological and allergenic properties in spectra of cereal proteins

Atousa Motie^{1*} und Manfred Werteker¹

Abstract

Gliadins and glutenins of 162 wheat flour samples from VCU trials of the harvest 2008 and 144 from 2009 were investigated by HPLC. 54 protein fractions were analysed quantitatively and related to loaf volume, dough stability, extensogram data, Zeleny sedimentation value, swelling and falling number. Using 161 barley samples the method was extended to the calculation of technological parameters of malt. In barley albumins, globulins, hordeins and hordenins - at all 98 peaks - were brought into correlation with extract yield, extract difference, diastatic power, soluble nitrogen and Kolbach number. The method of multivariate data analysis and principal-component-regression was applied for the creation of mathematical models for the prediction of the above mentioned technological parameters from protein spectra. The method was shown to be suitable for the prediction of selected technological parameters. Positive and negative influences of protein fractions on technological parameters were estimated by B coefficients. For the sedimentation value, dough energy, and loaf volume good correlations in the range of $R^2=0.7$ to 0.8 were obtained between calculated and analysed results. The identification of T-cell stimulating epitops from $\alpha 20$ -gliadine in HPLC-fractions of proteins by ELISA could be performed successfully in this project.

Keywords

Allergenic properties, cereals, *Hordeum vulgare*, HPLC, storage proteins, technological quality, *Triticum aestivum*

Einleitung

Ziel der Untersuchungen war die Entwicklung von auf den Ergebnissen von HPLC-Trennungen von Speicherproteinen beruhenden Methoden zur Analyse der technologischen und ernährungsphysiologischen Eigenschaften von Getreide.

Der technologische Teil der Studie sollte vor allem dem Ziel einer Hilfestellung für den Züchtungsfortgang durch molekulare Marker dienen, wie dies bereits in zahlreichen Studien angedacht wurde (PENA et al. 2002). Bisher durchgeführte Studien über die Zusammenhänge zwischen Proteinspektren und Qualitätsparametern beruhten vor allem auf

elektrophoretischen Untersuchungen (BALDSHIEV et al. 1997, SAPIERSTEIN et al. 1998, MIR et al. 1999, AMMAR et al. 2000). Die elektrophoretischen Muster werden dabei nur qualitativ ausgewertet. Quantitative Untersuchungen über die vorhandene Menge einer Proteinfraction bzw. über das Verhältnis verschiedener Proteinkomponenten zueinander wurden bisher in weit geringerem Maße publiziert und beruhen meist auf der Anwendung chromatographischer Methoden (BURNOUF und BIETZ 1984). Der Beitrag einer quantitativen Auswertung zur Vorhersage von Qualitätseigenschaften und zur Aufklärung von Einflüssen bestimmter Proteine auf das technologische Verhalten von Getreide ist dem gemäß weit weniger erforscht. Neben der Zuverlässigkeit der Methode zur Vorhersage unterschiedlicher technologischer Qualitätskriterien waren vor allem Zusammenhänge zwischen dem Auftreten verschiedener Peaks in den Chromatogrammen und der verstärkten oder verminderten Ausprägung technologischer Merkmale zu finden und zu prüfen. Besonderes Interesse verdienen in diesem Zusammenhang immer wieder berichtete Widersprüche zwischen den Ergebnissen indirekter Qualitätsmerkmale und den Resultaten von Backversuchen (ROGERS et al. 2001).

Während die technologischen Untersuchungen, abgesehen von den angewandten statistischen Verfahren, auf wohl bekannten und im eigenen Labor erprobten und akkreditierten Methoden beruhten, wurde im Bereich der Untersuchung auf Glutenunverträglichkeit wissenschaftliches und experimentelles Neuland betreten. Zunächst zeigte sich, dass Test-Kits zur Identifizierung pathogener Epitope nicht verfügbar waren (SPAENIJ-DEKKING 2004, MITEA et al. 2008).

Die bis vor kurzem ausschließlich erhältlichen ELISA-Test-Kits beruhen auf monoklonalen Antikörpern gegen die Epitope QQQFP, QQQFP, LQPFP und QLPPF (SKERITT und HILL 1990). Wie Vergleiche mit einer Auswahl an hinsichtlich ihrer Pathogenität untersuchten Peptiden aus Gliadinfraktionen (WIESER und KÖHLER 2008) zeigten, sind die angeführten Epitope sowohl in pathogenen als auch in nicht pathogenen Peptiden in gleichem Maße vorhanden. Durch Anwendung eines gegen ein T-Zellen stimulierendes Peptid aus $\alpha 20$ -Gliadin spezifischen ELISA konnte eines der potentiell pathogenen Epitope mit der Aminosäuresequenz FRPQQPYP im Getreideproteom nachgewiesen und einzelnen Proteinfractionen zugeordnet werden.

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

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

Material und Methoden

Zur Untersuchung gelangten sämtliche im Rahmen der amtlichen Sortenwertprüfung zu Mahl- und Backversuchen herangezogene Weizenproben der Ernten 2008 und 2009. Insgesamt wurden aus der Ernte 2008 162 und aus der Ernte 2009 144 Weizenproben untersucht. Die Untersuchungen bezüglich der Brau- und Mälzungsseignung der Gersten beruhten auf einer Auswertung von 161 Kleinmälzungsversuchen der Ernte 2009.

Die Proteinanalysen wurden nach WIESER et al. (1998) durchgeführt und umfassten die Auftrennung der Proteine mittels modifizierter Osborne-Fraktionierung in Albumine+Globuline, Gliadine und Glutenine und anschließende Untersuchung dieser Fraktionen durch RP-HPLC. Insgesamt wurden 54 Peaks der Proteintrennungen von Weizenproben und 98 Peaks aus den Gerstenchromatogrammen in die Untersuchungen mit einbezogen.

Die technologischen Eigenschaften wurden nach den entsprechenden ICC-Standards (International Association for Cereal Science and Technology, Wien) ermittelt. Die Mahl- und Backversuche wurden nach den Vorschriften des Institutes für Sortenwesen der AGES durchgeführt.

Rechenmodelle wurden auf der Basis der multivariaten Datenanalyse und der Principal Component Regression mit dem Programm Unscrambler, Vers. 9.6 (Camo Software AS, Oslo) erstellt. Technologisch wichtige Fraktionen wurden an Hand der B-Koeffizienten selektiert. Der Einfluss einer Proteinfraktion, d.h. eines Peaks wurde dann als signifikant eingestuft, wenn der zugehörige B-Koeffizient in allen drei aus Teilmengen erstellten Rechenmodellen das gleiche Vorzeichen hatte. Bei Weizen war überdies erforderlich, dass in beiden Versuchsjahren das gleiche Vorzeichen zu beobachten war.

Die vorhandenen Chromatogrammdaten und Referenzwerte wurden nicht nur zur Erstellung von Kalibrationen verwendet. Das verwendete Programm sieht auch Algorithmen zur Validierung vor. In diesem Falle wurden nicht alle vorhandenen Daten, sondern nur 4/5 zur Berechnung der Kalibration herangezogen. Ein weiteres Fünftel wurde mit der so erstellten Kalibration berechnet und die Korrelation zwischen errechneten und analysierten Daten berechnet. Dieser Prozess wird fünfmal wiederholt, wobei jedes Mal ein anderes Fünftel aus dem Kalibrationsdatensatz ausgeschlossen wird.

Pathogene Epitope wurden im Eluat der HPLC-Trennungen mit Hilfe des pathogenspezifischen ELISA nachgewiesen.

Ergebnisse

Die Rechenmodelle zeigten, dass von den teigrheologischen Parametern die Teigenergie am besten vorhersagbar war. Bereits durch die erste Hauptkomponente konnten etwa 60% der Variabilität erklärt werden. Zwischen Kalibrierung und Validierung ergaben sich dabei nur geringe Differenzen und zwischen berechneten und analysierten Werten wurde bei Anwendung des zur Validierung vorgesehenen Rechen-schemas eine Korrelation von $R^2=0,73$ erreicht. Auch für die Dehnlänge konnten zuverlässige Rechenmodelle erstellt werden. Die erste Hauptkomponente konnte etwa 50% der

Variabilität der Dehnlänge erklären. Die Korrelation zwischen berechneten und analysierten Werten betrug $R^2=0,69$.

Deutlich schwächer war hingegen das Modell für den Dehnwiderstand. Hier konnte die erste Hauptkomponente im Validierungsmodus nur knapp mehr als 10% der Variabilität erklären. Mit etwa 8 Hauptkomponenten konnten schließlich etwa 50% erklärt werden. Die zugehörige Korrelation zwischen berechneten und gefundenen Werten lag bei $R^2=0,55$. Die Differenz zwischen der durch Kalibration und der durch Validierung erklärbaren Variabilität war erheblich höher als bei den Modellen für Teigenergie und Dehnlänge.

Beim Gebäckvolumen konnten mit der ersten Hauptkomponente bei geringem Unterschied zwischen Kalibrierung und Validierung etwa 35% der Variabilität erklärt werden. Zur Erreichung von ca. 45% erklärter Variabilität waren jedoch 10 Hauptkomponenten erforderlich, wobei auch die Differenz zwischen Kalibrierung und Validierung erheblich zunahm.

Die Ergebnisse, insbesondere die erhöhten Differenzen der erklärten Variabilität zwischen Kalibrierung und Validierung zeigen, dass Parameter wie Dehnwiderstand und Gebäckvolumen offenbar auch durch Ursachen beeinflusst werden, die nicht unmittelbar mit dem Proteinspektrum in Zusammenhang stehen. Trotzdem konnte das Gebäckvolumen von Proben, die bei der AGES verbacken wurden, die aber nicht Teil der Kalibrierung waren, relativ zuverlässig vorhergesagt werden ($R^2=0,8363$). Die verwendete Kalibrierung wurde in diesem Falle aus Proben des gleichen Jahrganges erstellt, dem auch die untersuchten Proben entstammten. Proben der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft wurden ebenfalls chromatographisch untersucht. Die daraus berechneten Gebäckvolumina korrelierten jedoch mit den freundlicher Weise zur Verfügung gestellten Backergebnissen in wesentlich geringerem Maße ($R^2=0,5903$). Dieser Unterschied kann sowohl darauf zurückgeführt werden, dass die untersuchten Sorten nicht Teil des der Kalibrierung zugrunde liegenden Sortenspektrums war als auch, dass die Methodik der Backversuche verschieden ist. Ergebnisse der beiden bei der AGES untersuchten Jahrgänge ergaben bei Berechnung durch das jeweilige Modell des anderen Jahrganges ebenfalls schwächere Korrelationen. Daraus ist der Schluss zu ziehen, dass ein erheblicher Jahrgangs- und Umwelteinfluss auf das Zustandekommen der technologischen Eigenschaften besteht.

An Hand der B-Koeffizienten konnten die Einflüsse einzelner Peaks auf verschiedene Parameter geschätzt werden. Positiven Einfluss auf das Gebäckvolumen hat demnach ein Peak im Bereich der α -Gliadine mit einer Laufzeit von 19,06 Minuten. Vor allem aber waren zwei der Hauptpeaks aus der Fraktion der HMW-Glutenine positiv mit dem Gebäckvolumen korreliert. Ebenso zeigten zwei große Peaks der LMW-Glutenine eine positive Beziehung zum Gebäckvolumen. Ein Teil dieser Peaks war auch positiv mit der Teigenergie korreliert. Es zeigte sich jedoch, dass diese durch weitere Peaks der LMW-Glutenine, $\omega 5$ -, α -, γ - und $\omega 6$ -Gliadine positiv sowie von einem α -Gliadin Peak negativ beeinflusst wurde. Im Bereich der γ -Gliadine wurden vor allem Peaks mit negativem Einfluss auf den Dehnwiderstand gefunden. Der α -Gliadinpeak und ein LMW-Gluteninpeak

mit positivem Einfluss auf das Gebäckvolumen hatten auch positiven Einfluss auf den Dehnwiderstand, während zwei LMW-Gluteninpeaks mit negativem Einfluss identifiziert werden konnten. Peaks mit Einfluss auf den Dehnwiderstand hatten in den meisten Fällen einen entgegengesetzt gerichteten Einfluss auf die Dehnlänge.

Das T-Zellen stimulierende Epitop konnte in dem für Gebäckvolumen und Dehnwiderstand relevanten α -Gliadin-Peak sowie in einem ω 1,2-Gliadin und einem ebenfalls technologisch wichtigen HMW-Glutenin-Peak nachgewiesen werden.

Die Untersuchungen der Proteinspektren von Braugersten zeigten, dass vor allem in der Albumin/Globulin-Fraktion Peaks mit positivem Einfluss auf die enzymatische Kraft des Malzes zu finden sind. Hordeine und Hordenine haben geringen bzw. eher negativen Einfluss auf Parameter wie Extraktausbeute und Diastatische Kraft. So konnten eher schwächere Modelle für die Extraktausbeute aus der Albumin- und Globulinfraktion (erklärte Variabilität Kalibrierung: 65%, $R^2=0,53$; Validierung 55%; Kalibrierung: $R^2=0,48$; 5 PC) und ein ausschließlich auf der Albumin- und Globulinfraktion beruhendes Modell für die Diastatische Kraft (erklärte Variabilität Kalibrierung: 62%, $R^2=0,61$; Validierung: 45%, $R^2=0,53$; 8 PC) berechnet werden. In den Hordeinen wurden zwei Peaks gefunden, die das möglicherweise pathogene α -Gliadin-Epitop enthielten.

Danksagung

Dem Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft wird für die Finanzierung des Projektes der Dank der Verfasser ausgesprochen.

Literatur

AMMAR K, KRONSTAD WE, MORRIS CF, 2000: Breadmaking quality of selected durum wheat genotypes and its relationship with high molecular weight glutenin subunits allelic variation and gluten protein polymeric composition. *Cereal Chem* 77: 230-236.

- BALDSHIEV D, BUTEBA A, HANDRECK B, 1997: Untersuchungen der Beziehungen zwischen den Eiweissfraktionen und den technologischen Eigenschaften des Weizens. *Mühle Mischfuttertech* 134: 433-436.
- BURNOUF T, BIETZ JA, 1984: Reversed-phase high performance liquid chromatography of reduced glutenin, a disulfide bonded protein of wheat endosperm. *J Chromatography* 299: 185-199.
- MIR AN, ARABI MIE, AL-SAFADI B, 1999: High molecular weight glutenin subunits composition of Syrian grown bread wheat and its relationships with gluten strength. *J Genet Breed* 53: 237-245.
- MITEA C, KOOY-WINKELAAR Y, VAN VEELLEN P, DE RU A, DRIJFHOUT JW, KONING F, DEKKING L, 2008: Fine specificity of monoclonal antibodies against celiac disease-inducing peptides in the gluteome. *Am J Clin Nutr* 88: 1057-1066.
- PENA RJ, TRETOWAN R, PFEIFFER WH, VAN GINKEL M, 2002: Quality (end-use) improvement in wheat: compositional, genetic, and environmental factors. *J Crop Prod* 5: 1-37.
- ROGERS WJ, SAYERS EJ, RU KL, 2001: Deficiency of individual high molecular weight glutenin subunits affords flexibility in breeding strategies for bread-making quality in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 117: 99-109.
- SAPIERSTEIN HD, FU BX, 1998: Intercultivar variation in the quantity of monomeric proteins, soluble and insoluble glutenin and residue protein in wheat flour and relationships to breadmaking quality. *Cereal Chem* 75: 500-507.
- SKERITT JH, HILL AS, 1990: Monoclonal antibody sandwich enzyme immunoassays for determination of gluten in foods. *J Agric Food Chem* 38: 1771-1778.
- SPAENJI-DEKKING EHA, KOOY-WINKELAAR EMC, NIEUWENHUIZEN WF, DRIJFHOUT JW, KONING F, 2004: A novel and sensitive method for the detection of T cell stimulatory epitopes of α/β - and γ -gliadin. *Gut* 53: 1267-1273.
- WIESER H, KÖHLER P, 2008: The biochemical basis of celiac disease. *Cereal Chem* 85: 1-13.
- WIESER H, ANTES S, SEILMEIER W, 1998: Quantitative determination of gluten protein types in wheat flour by reversed-phase high-performance-liquid-chromatography. *Cereal Chem* 75: 644-650.

Genetic resources of hulled wheat species in Czech organic farming

Petr Konvalina^{1*}, Ivana Capouchová² and Zdeněk Stehno³

Abstract

As organic farmers are searching for new market and sale opportunities, the organic farming system may grow and process a wider range of species than the conventional farming system. Concerning wheat especially the hulled wheat species einkorn, emmer wheat and spelt wheat are in recent years of growing interest for organic farmers. Field trials were carried out at three Czech locations from 2009 to 2010 to study the performance of 4 einkorn, 8 emmer wheat and 7 spelt wheat accessions. All trials were spring sown and bread wheat variety SW Kadrijl was used as check. The results show that some accessions of the hulled wheat species are inclined to lodging. On the other hand, they are resistant to foliar diseases, e.g. powdery mildew and leaf rust. Hulls serve as barriers against *Fusarium* head blight infection and therewith associated DON contamination of grains. Grain yield of hulled wheats is inferior compared to common wheat. Grains are characterised by high protein contents (up to 18.1%), however, protein quality is lower so that hulled wheats are not suitable to common baking procedures. Productivity of hulled wheat crops needs to be increased in order to extend their acreage in organic farming systems. The different technological and nutritional quality of hulled wheat species offers the possibility for new food products to be launched on the market and, hence, possibilities for regional marketing.

Keywords

Einkorn, emmer, genetic resources, spelt, *Triticum*, wheat

Introduction

Plant genetic resources are a unique non renewable resource of an improvement in the genetic base of field crops (ØSTERGÅRD et al. 2009). Genetic diversity has become more important during the last several years. Relevant resources of diversity and strategies for an implementation of genetic diversity in organic breeding programmes have to be identified (SERPOLAY et al. 2001).

Wheat is one of the most important crops for the organic farming system (WILLER and KILCHER 2009). It was initially grown and processed by people 10000 years ago as part of the Neolithic Revolution. Animal hunting and fruit gathering ceased to be primary means of living and a settled agriculture emerged and developed (SHEWRY 2009). Nowadays, common wheat (*Triticum aestivum* L.)

is the dominant cereal species worldwide (WILLER and KILCHER 2009). Einkorn (*Triticum monococcum* L.), emmer wheat (*Triticum dicoccum* (Schrank) Schuebl.) and spelt wheat (*Triticum spelta* L.) used to belong to the oldest domesticated species and they were also widespread (SUCHOWILSKA et al. 2009). Einkorn is an obsolete diploid cereal species being evidenced by archeologists 10000 years ago (WIESER et al. 2009). It spread to our region in the neolithic period (STEHNO 2001). Nowadays, einkorn is grown on a limited surface in Western Turkey, on the Balkan peninsula, in Italy, Spain, Switzerland, Germany (WIESER et al. 2009) and Austria. Emmer wheat is a tetraploid hulled wheat species. It has been traditionally grown and used as a part of the human diet (MARCONI and CUBADDA 2005). It is still grown as a minor crop in Ethiopia, India, Italy (MARINO et al. 2009) or in Turkey (GIULIANI et al. 2009). The hexaploid spelt wheat is considered to be an obsolete cultural European wheat species. It used to grow widespread in Central Europe in the past as it was (is) resistant to cold and is able to provide acceptable grain yields even on low fertility soils (FELDMAN 2001). Spelt wheat is nowadays mainly grown in Central and Western Europe, i.e. Germany, Switzerland, Austria, Czech Republic and Hungary (TROCOLI and CODIANNI 2005).

An abundance of information on positive as well as negative features of hulled wheat landraces is crucial determining their application in the breeding process and growing in sustainable farming systems (organic farming, low-input farming). Organic farmers seek varieties characterised by a higher genetic diversity and thereby ability to adapt to a farm's land and climatic conditions. A wider genetic diversity of varieties also enhances their ability to respond to unexpected environmental conditions (BECKER and LEON 1988, CECCARELLI et al. 2001, FINCKH 2008). Regarding the increasing requirements for diversity and quality of foodstuffs hulled wheat species have become more interesting and attractive (ZAHARIEVA et al. 2010). Therefore, organic farmers look for varieties characterised by a higher nutritional value and suitability for processing and production of a wide range of regional products, and, thereby, providing a competitive advantage for these organic farmers by offering unique products.

This work provides information on characteristics of hulled wheat genetic resources which can be valuable and important for sustainable farming systems. Objectives are: (a) an identification of weak points of hulled wheat landraces for organic farming; (b) an analysis of protein formation in

¹ University of South Bohemia, Faculty of Agriculture, Studentská 13, CZ-370 05 ČESKÉ BUDĚJOVICE

² Czech University of Life Sciences, Faculty of Agrobiolgy, Kamýcká 120, CZ-165 21 PRAGUE 6

³ Crop Research Institute, Drnovská 507, CZ-161 06 PRAGUE 6

* Ansprechpartner: Petr KONVALINA, konvalina@zf.jcu.cz

Table 1: List of used genetic resources

Accession name	Accession Id. ¹	Origin ²	Botanical variety ³
<i>Triticum monococcum</i> L.			
<i>Triticum monococum</i> 38	01C0204038	GEO	<i>hohensteinii</i> Flaksb.
<i>Triticum monococum</i> 44	01C0204044	ALB	<i>vulgare</i> Koern.
No. 8910	01C0204542	DNK	<i>macedonicum</i> Papag.
Schwedisches Einkorn	01C0204053	SWE	<i>vulgare</i> Koern.
<i>Triticum dicocum</i> (Schränk) Schuebl.			
Rudico	01C0200948	CZE	<i>rufum</i> Schuebl.
Weisser Sommer	01C0203993	DEU	<i>dicocum</i>
May-Emmer	01C0203990	CHE	<i>dicocum</i>
<i>Triticum dicoccon</i> (Brno)	01C0204022	CZE	<i>rufum</i> Schuebl.
<i>Triticum dicoccon</i> (Dagestan)	01C0204016	RUS	<i>serbicum</i> A. Schulz
<i>Triticum dicoccon</i> (Palestine)	01C0201261	ISR	<i>serbicum</i> A. Schulz
<i>Triticum dicoccon</i> (Tapioszele)	01C0201280	-	<i>semicanum</i> Koern.
<i>Triticum dicocum</i> (Tabor)	01C0204318	-	<i>rufum</i> Schuebl.
<i>Triticum spelta</i> L.			
<i>Triticum spelta</i> (Ruzyne)	01C0201257	CZE	<i>arduini</i> (Mazz.) Koern.
<i>Triticum spelta</i> (Tabor 22)	01C0204322	-	<i>duhamelianum</i> Koern.
<i>Triticum spelta</i> (Tabor 23)	01C0204323	-	<i>duhamelianum</i> Koern.
Spalda bila jarni	01C0200982	CZE	<i>album</i> (Alef.) Koern.
VIR St. Petersburg	01C0204865	CZE	<i>album</i> (Alef.) Koern.
<i>Triticum spelta</i> (Kew)	01C0200984	-	<i>caeruleum</i> (Alef.) Koern.
<i>Triticum spelta</i> No. 8930	01C0204506	-	<i>album</i> (Alef.) Koern.
<i>Triticum aestivum</i> L.			
SW Kadrlj	01C0104877	SWE	<i>lutescens</i> (Alef.) Mansf.

¹ EVIGEZ (http://genbank.vurv.cz/genetic/resources/asp2/default_c.h)

² ISO 3166-1 A3 country codes (<ftp://ftp.fu-berlin.de/doc/iso/iso3166-countrycodes.txt>)

³ Classification according to DOROFFEV et al. (1979)

relation to grain yield; (c) an evaluation of basic parametres of technological (baking) quality.

Material and methods

Genetic resources of einkorn, emmer wheat, spelt wheat and common wheat (Table 1) were provided by the genebank of the Crop Research Institute, Prague-Ruzyně. The varieties were sown in a randomized, complete block design on organic fields in Prague (two sites) and České Budějovice (one site) in 2009 and 2010. Seeding rate was adjusted for a density of 350 germinable grains per m². Crop stands were treated in compliance with European legislation (European Council Regulation (EC) 834/2007, European Commission Regulation (EC) 889/2008). The experimental site of the University of South Bohemia, České Budějovice (USB), at 388 m a.s.l. is characterised by a mild warm climate, the soil is classified as pseudogley cambisol and the surface texture is sandy loam. The site of the Czech University of Life Sciences, Prague (CULS) at an altitude of 295 m a.s.l. is characterised by a warm and mid-dry climate, brown soil with a clay loam surface texture. The experimental site of the Crop Research Institute, Prague-Ruzyně (CRI), at 340 m a.s.l. is characterised by a warm, mid-dry climate, the soil is classified as degraded chernozem and the surface texture is clay and loam. Results of soil analysis are presented in Table 2. Climatic conditions of the experimental sites are demonstrated in Figure 1.

The following evaluations were carried out during the vegetation period: plant height (at the end of the flowering, DC69), lodging index (combination of intensity and degree of lodging; mean of two measurements: after heading, DC

59, and before harvest, DC 87), powdery mildew (DC37, 51-61, 77) and leaf rust infestation (DC 77) expressed on a 0 to 9 scoring scheme (0=totally infected; 9=no symptoms). After harvest grain yield and protein content were measured and protein yield was calculated.

Deoxynivalenol (DON) content was determined by the ROSA[®]-DON Quantitative test. The toxin was extracted from the grain sample (deionized water was used as a solvent), 100 µl of the extract was diluted in 1 ml of buffer. 300 µl of the diluted extract was applied on the test strip which was subsequently incubated for 10 min at 45°C (ROSA[®]-M Incubator). Results (in ppb) were assessed using the ROSA[®]-M Reader (Charm Sciences, Inc., Lawrence, MA).

After dehulling of grains the following quality traits were determined following standard methods of the International Association for Cereal Science and Technology (ICC): crude protein content (ICC 105/2), SDS sedimentation test

Table 2: Soil analysis of experimental sites

Site/year	pH	N-NH ₄	N-NO ₃	P	K	Ca	Mg
	(CaCl ₂)	(mg·kg ⁻¹)					
USB (České Budějovice)							
2009	5.91	15.5	8.1	120	65	114	1452
2010	6.67	2.42	7.3	111	86	1808	129
CULS (Prague-Uhřetvíněves)							
2009	6.13	11.41	10.0	109	130	155	3134
2010	6.67	3.84	15.8	68	145	2837	143
CRI (Prague-Ruzyně)							
2009	7.20	19.9	9.0	130	298	202	5163
2010	7.43	4.64	12.2	109	380	5277	183

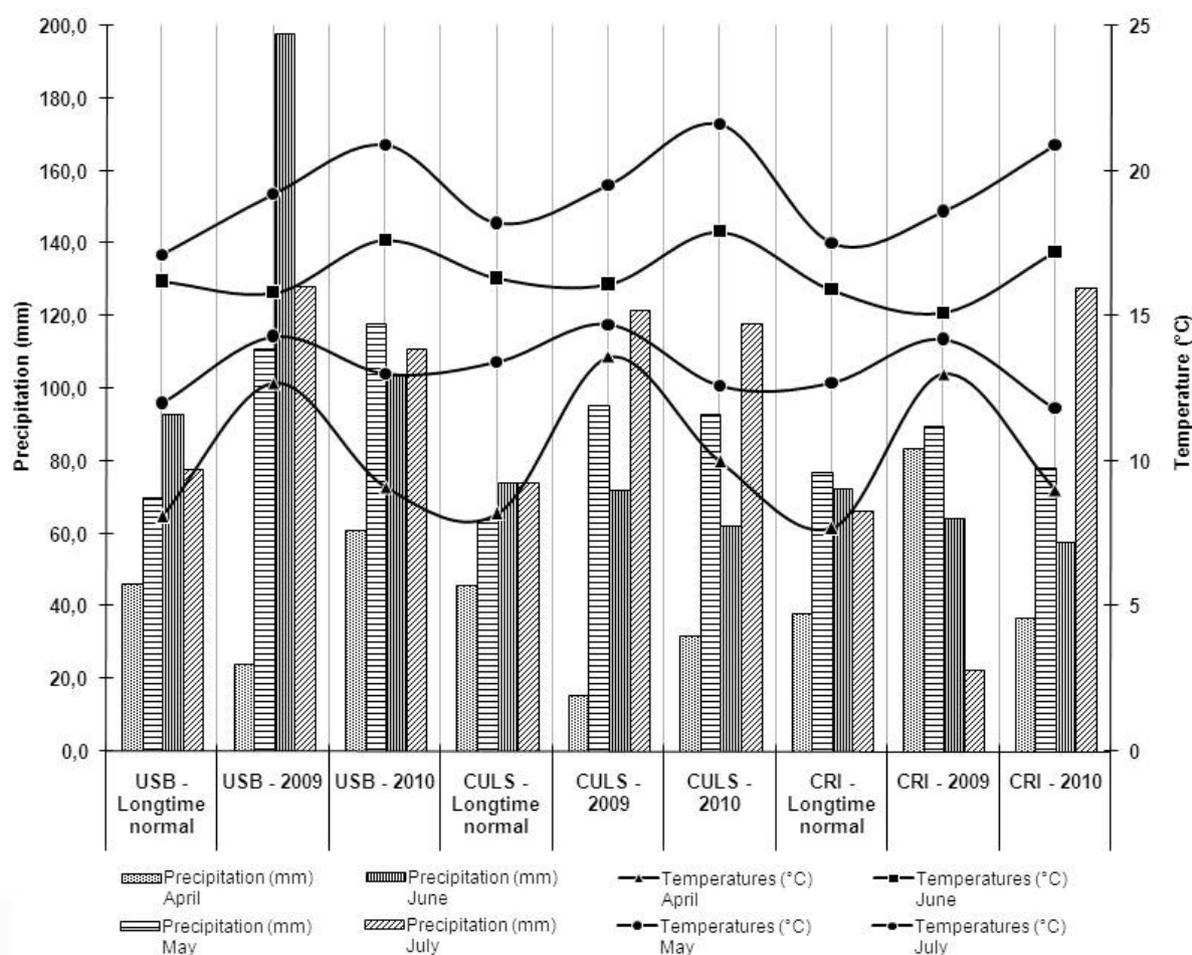


Figure 1: Climate conditions of the experimental sites

(ICC 151), wet gluten content (ICC 106/2) and gluten index (ICC 155).

Data were statistically processed by Statistica 9.0 software (StatSoft, Inc., Tulsa, OK) program. Regression and correlation analyses were used for the evaluation of interdependence. Comparison of variety means were carried out by the Tukey HSD test.

Results and Discussion

A large amount of data were produced within the framework of our ongoing research. In the following only selected results will be presented revealing both advantages and disadvantages of hulled wheat genetic resources.

Plant height and resistance to lodging are two crucial factors in regard to weed competitiveness (CUDNEY et al. 1991, KONVALINA et al. 2010). Among the studied plant material variability of plant height was low (Table 3). The only exception was Schwedisches Einkorn with a mean of 100.4 cm. It was one of the most resistant accession against lodging. Increased plant height, however, does not automatically result in reduced resistance to lodging (PAGNOTTA et al. 2005) which was also observed in the present plant material for e.g. *T. dicoccon* (Dagestan) (plant height: 115.8 cm; lodging score: 4.7) and *T. dicoccon* (Tapioszele) (134.1 cm; 6.8). Resistance to lodging is more often determined by

the width and firmness than the length of the culm (KONVALINA et al. 2010). The results show that the choice of resistant cultivars or the improvement of lodging resistance should be the essential selection criteria.

A high resistance to pests and diseases is essential in natural-friendly farming systems since these systems are based on limited or no chemical protection (WOLFE et al. 2008). The majority of the tested hulled wheat accessions were resistant to powdery mildew (*Blumeria graminis*) and leaf rust (*Puccinia recondita*). *T. dicoccon* (Dagestan), *T. spelta* (Ruzyně) and *T. spelta* (Kew) were the only accessions with a slightly higher susceptibility to powdery mildew. In regard to leaf rust the einkorn and emmer accessions were highly resistant after natural infection, whereas the majority of spelt wheat accessions showed similar susceptibility than SW Kadrilj (Table 3). Our study showed that highly resistant genotypes to both foliar diseases are present in genetic resources stored in genebanks and that this material represents a valuable resource for wheat breeding (HEISEY et al. 1997, WOLFE et al. 2008).

Food safety is essential for sustainable farming systems especially in case of direct processing of products at farms. Infections with *Fusarium* spp. can result not only in yield losses, but also in a contamination of the grain by mycotoxins, e.g. deoxynivalenol (DON) (KÖHL et al. 2007,

Table 3: Agronomic traits of hulled wheat genetic resources (Means over three sites and two years; means followed by the same letter are not significantly different at $P < 0.05$)

Species/Accession	Plant height (cm)	Lodging (0-9)	Powdery mildew (0-9)	Leaf rust (0-9)	DON (ppb)
<i>Triticum monococcum</i>					
38	123.6 ^{b-g}	4.8 ^a	9.0 ^e	8.8 ^f	116.7 ^a
44	114.4 ^{bc}	4.7 ^a	9.0 ^e	8.8 ^f	350.0 ^{ab}
No. 8910	117.9 ^{b-c}	6.2 ^{ab}	8.9 ^{de}	8.8 ^f	80.0 ^a
Schwedisches Einkorn	100.4 ^a	6.7 ^{ab}	8.9 ^{de}	8.9 ^f	128.3 ^a
Mean + Std. dev.	114.1±9.9	5.6±1.0	9.0±0.1	8.8±0.0	168.8±122.3
<i>Triticum dicoccon</i>					
Rudico	128.1 ^{d-h}	7.0 ^{ab}	9.0 ^e	8.6 ^{ef}	23.3 ^a
Weisser Sommer	132.3 ^{f-h}	6.5 ^{ab}	9.0 ^e	8.7 ^f	21.7 ^a
May-Emmer	132.9 ^{f-h}	6.3 ^{ab}	9.0 ^e	8.7 ^f	33.3 ^a
Brno	113.9 ^b	4.8 ^a	8.9 ^{de}	8.6 ^f	158.3 ^a
Dagestan	115.8 ^{b-d}	4.7 ^a	8.5 ^{e-e}	8.4 ^{ef}	350.0 ^{ab}
Palestine	126.0 ^{b-h}	5.6 ^{ab}	8.6 ^{e-e}	8.3 ^{ef}	100.0 ^a
Tapiosezele	134.1 ^{gh}	6.8 ^{ab}	8.9 ^{de}	8.6 ^{ef}	791.7 ^b
Tabor	133.1 ^{f-h}	6.2 ^{ab}	9.0 ^e	8.4 ^{ef}	63.2 ^a
Mean + Std. dev.	127.0±8.0	6.0±0.9	8.9±0.2	8.5±0.2	192.7±265.5
<i>Triticum spelta</i>					
Ruzyne	129.8 ^{e-h}	5.4 ^{ab}	8.2 ^{b-d}	6.7 ^{b-d}	41.7 ^a
Tabor 22	119.9 ^{b-f}	6.0 ^{ab}	8.8 ^{e-e}	7.3 ^{cd}	83.3 ^a
Tabor 23	128.1 ^{d-h}	6.4 ^{ab}	8.8 ^{e-e}	6.8 ^{b-d}	133.3 ^a
Spalda bila jarni	127.3 ^{c-h}	6.5 ^{ab}	8.6 ^{e-e}	6.2 ^{ab}	120.8 ^a
VIR St. Petersburg	122.6 ^{b-g}	6.0 ^{ab}	8.6 ^{e-e}	6.6 ^{b-d}	70.0 ^a
Kew	137.5 ^h	5.0 ^a	8.2 ^{b-d}	7.6 ^{de}	83.3 ^a
No. 8930	122.5 ^{b-g}	5.8 ^{ab}	8.6 ^{e-e}	6.4 ^{a-c}	241.7 ^a
Mean + Std. dev.	126.8±5.9	5.9±0.5	8.5±0.3	6.8±0.5	110.6±65.4
<i>Triticum aestivum</i>					
SW Kadrijl	88.7 ^a	8.25 ^b	8.7 ^{e-e}	6.2 ^{ab}	246.7 ^a

NEDĚLNÍK et al. 2007). In the present study DON contamination has not exceeded the EU regulated limit of 1250 ppb (EC regulation 1126/2007). Spelt wheat (110.6 ppb) and einkorn (168.9 ppb) were characterised by very low DON contamination. Generally, differences between accessions were negligible (Table 3). DON contamination was also low for emmer wheat with the exception of *T. dicoccon* (Tapiosezele) (791 ppb). Hulls play a role as resistance factor against *Fusarium* infection reducing mycotoxin contamination of the grain: they protect the grains and are removed before final processing of the grains (BUERSTMAYR et al. 2003). Yield stability is a priority in organic farming (WOLFE et al. 2008). However, farmers also need varieties with an economically profitable yield potential and a high end use quality. Due to the negative correlation between the grain yield and protein content protein yield per ha was used as indicator of interesting outliers. SW Kadrijl exhibited a mean grain yield of 3.7 t·ha⁻¹. Mean grain yield of organically grown wheat in the Czech Republic was 3.14 t·ha⁻¹, while 5.29 t·ha⁻¹ was realised for conventional grown wheat (MZE 2009, 2010). The difference between organic and conventional yield is similar to data presented by other authors, i.e. 20 to 30% reduction (MÄDER et al. 2002, LAMMERTS VAN BUEREN et al. 2002). Einkorn and emmer wheat reached 57% and spelt wheat reached 70% of the yield of SW Kadrijl. Einkorn accession No. 8910 (2.3 t·ha⁻¹), emmer wheat Rudico (2.9 t·ha⁻¹) and spelt wheat accessions Tabor 22, Tabor 23 and No. 8930 (2.3 t·ha⁻¹) were the highest yielding varieties of hulled wheat (Table 4). *T. spelta* No. 8930 reached a higher protein yield (475 kg·ha⁻¹) than SW Kadrijl (450 kg·ha⁻¹) (Figure 2). Compared to SW Kadrijl the group of einkorn wheats reached a relative protein yield of 72%, the emmer wheats

of 77%, and the spelt wheats of 94%. Within the species the accessions were significantly variable. This variability can be used for the selection of genotypes with acceptable protein yield and good end use quality.

Protein yield increased in relation to grain yield whereas protein content decreased with increasing grain yield (Figure 2). Emmer wheat varieties contained the highest concentration of protein (mean: 16.8%). *T. dicoccon* (Palestine) showed a mean protein content of 18.1% which is +5.8% compared to SW Kadrijl. Mean contents for spelt wheat and einkorn were 16.5% and 15.8%, respectively. The high protein content of old landraces was also reported by several other authors (e.g. DOTLAČIL et al. 2002, 2010). Wet gluten content was high in all hulled wheat species (37.7-48.8%) whereas it reached only 27.3% in SW Kadrijl. Contrary, einkorn and emmer wheat varieties showed low values of gluten index (12.7-20.7) and SDS sedimentation volume (18-45.7 ml). Their dough is usually sticky, is hard to work and baked products have an inferior baking volume (D'EGIDIO et al. 1993, ABDEL-AAL et al. 1997, CORBELLINI et al. 1999). Spelt wheat varieties reached higher gluten indices (37.6-48.8) and sedimentation volumes (46.2-70.2 ml). Therefore, spelt wheat varieties which are suitable for common baking procedures are available in the present genepool. Due to their inferior gluten quality einkorn and emmer wheat are not suitable for common baking procedures but they have to be used in a different way. Production of flour mixtures is one possibility. Moreover, there are a lot of products made from hulled wheat species, e.g. pasta, non yeast bread, biscuits, etc. (ABDEL-AAL and HUCL 2005, FRÉGEAU-REID and ABDEL-AAL 2005, MARCONI and CUBADDA 2005).

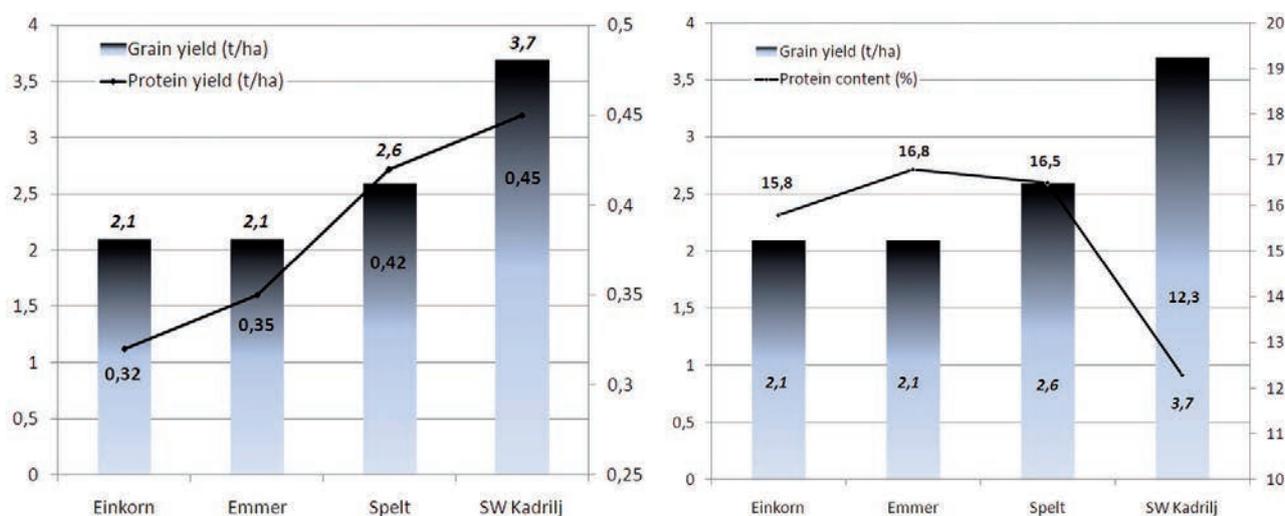


Figure 2: Grain yield, protein yield and protein content of hulled wheat species compared to common wheat variety SW Kadrij

Table 4: Grain yield and quality traits of hulled wheat genetic resources (Means over three sites and two years; means followed by the same letter are not significantly different at $P < 0.05$)

Species/Accession	Grain yield (t·ha ⁻¹)	Protein yield (kg·ha ⁻¹)	Protein content (%)	Wet gluten (%)	Gluten index	SDS sedimentation (ml)
<i>Triticum monococcum</i>						
38	2.1 ^a	338.8 ^{ab}	16.5 ^{c-h}	37.7 ^{b-f}	17.2 ^{ab}	36.7 ^{c-f}
44	1.9 ^a	301.4 ^{ab}	16.9 ^{fh}	38.3 ^{b-f}	12.8 ^a	36.3 ^{c-f}
No. 8910	2.3 ^{ab}	346.8 ^{ab}	15.3 ^{b-g}	39.2 ^{b-g}	14.8 ^a	19.2 ^{ab}
Schwedisches Einkorn	2.1 ^a	312.1 ^{ab}	14.6 ^{a-f}	38.9 ^{b-f}	15.2 ^{ab}	27.33 ^{a-c}
Mean + Std. dev.	2.1±0.2	324.8±21.5	15.8±1.1	38.5±0.7	15.0±1.8	29.9±8.3
<i>Triticum diccocom</i>						
Rudico	2.8 ^{ab}	432.3 ^{ab}	16.0 ^{c-h}	39.8 ^{b-g}	17.8 ^{ab}	41.0 ^{d-f}
Weisser Sommer	2.4 ^{ab}	398.5 ^{ab}	17.0 ^{fh}	43.0 ^{c-g}	20.7 ^{a-c}	45.7 ^{f-h}
May-Emmer	2.4 ^{ab}	390.2 ^{ab}	16.7 ^{fh}	40.9 ^{b-g}	16.8 ^{ab}	44.5 ^{e-g}
Brno	2.1 ^a	325.5 ^{ab}	15.8 ^{b-h}	38.3 ^{b-f}	12.3 ^a	22.7 ^{ab}
Dagestan	2.3 ^{ab}	345.3 ^{ab}	15.9 ^{b-h}	41.4 ^{b-g}	15.2 ^{ab}	18.0 ^a
Palestine	1.6 ^a	286.1 ^{ab}	18.1 ^h	42.3 ^{c-g}	13.1 ^a	28.7 ^{a-d}
Tapioszele	1.5 ^a	267.9 ^{ab}	17.4 ^{gh}	41.7 ^{b-g}	13.1 ^a	22.2 ^{ab}
Tabor	1.9 ^a	338.0 ^{ab}	17.2 ^{fh}	43.5 ^{c-g}	12.7 ^a	31.8 ^{b-e}
Mean + Std. dev.	2.1±0.4	348.0±56.4	16.8±0.8	41.4±1.7	15.2±3.0	31.8±10.8
<i>Triticum spelta</i>						
Ruzyne	2.5 ^{ab}	404.9 ^{ab}	16.2 ^{c-h}	43.3 ^{c-g}	39.3 ^{d-f}	46.2 ^{e-i}
Tabor 22	2.7 ^{ab}	453.2 ^b	16.3 ^{c-h}	43.9 ^{c-g}	38.8 ^{d-f}	59.7 ^{jk}
Tabor 23	2.7 ^{ab}	443.9 ^{ab}	16.7 ^{e-h}	44.3 ^{d-g}	34.7 ^{de}	61.3 ^{jk}
Spalda bila jarni	2.6 ^{ab}	443.8 ^{ab}	17.0 ^{fh}	47.1 ^g	32.7 ^{c-e}	61.5 ^{jk}
VIR St. Petersburg	2.6 ^{ab}	372.9 ^{ab}	15.1 ^{b-g}	37.6 ^{b-ef}	36.8 ^{de}	57.7 ^{h-k}
Kew	2.2 ^{ab}	364.1 ^{ab}	16.5 ^{d-h}	46.1 ^{e-g}	44.5 ^{e-g}	70.2 ^{kl}
No. 8930	2.7 ^a	475.0 ^b	17.5 ^{gh}	48.8 ^g	28.2 ^{b-d}	60.3 ^{jk}
Mean + Std. dev.	2.6±0.2	422.5±42.4	16.5±0.7	44.4±3.6	36.4±5.2	59.6±7.1
<i>Triticum aestivum</i>						
SW Kadrij	3.7 ^b	450.1 ^b	12.3 ^a	27.3 ^a	75.0 ^h	74.7 ^l

Conclusions

Hulled wheat landraces have a lot of favourable characteristics making the landraces very attractive, e.g. high protein content. Resistances to wheat diseases or the competitiveness to weeds are other positive aspects. In our study the following accessions were the most promising ones: einkorn No. 8910, emmer wheat varieties Rudico and Weisser Sommer, and spelt wheat No. 8930. Reduced resistance to lodging is a main weakness of old landraces. Spelt wheat varieties were less resistant to leaf rust and they reached

lower crop stand productivity values which may lead to reduced grain yield. End use quality traits are significant inferior compared to common wheat. Therefore, hulled wheat species provide an opportunity for the production of various food products which are very different from the conventional common wheat products.

Acknowledgements

Supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic - NAZV, Grant No. QH 82272.

References

- ABDEL AAL ESM, HUCL P, 2005: Spelt: a speciality wheat for emerging food uses. In: Abdel-Aal ESM, Wood P (Eds.), *Speciality grains for food and feed*, 109-142. Am Ass Cereal Chem, St. Paul, MN.
- ABDEL-AAL ESM, HUCL P, SOSULSKI FW, BHIRUD PR, 1997: Kernel, milling and baking properties of spring-type spelt and einkorn wheats. *J Cereal Sci* 26: 363-370.
- BECKER HC, LEON J, 1988: Stability analysis in plant breeding. *Plant Breed* 101: 1-23.
- BUERSTMAYR H, STIERSCHNEIDER M, STEINER B, LEMMENS M, GRIESSER M, NEVO E, FAHIMA T, 2003: Variation for resistance to head blight caused by *Fusarium graminearum* in wild emmer (*Triticum dicoccoides*) originating from Israel. *Euphytica* 130: 17-23.
- CECCARELLI S, GRANDO S, BAILEY E, AMRI A, EL-FELAH M, NASSIF F, REZGUI S, YAHYAOU A, 2001: Farmer participation in barley breeding in Syria, Morocco and Tunisia. *Euphytica* 122: 521-536.
- CORBELLINI M, EMPILLI S, VACCINO P, BRANDOLINI A, BORGHI B, HEUN M, SALAMINI F, 1999: Einkorn characterization for bread and cookie production in relation to protein subunit composition. *Cereal Chem* 76: 727-733.
- CUDNEY DW, JORDAN LS, HALL AE, 1991: Effect of wild oat (*Avena fatua*) infestations on light interception and growth rate of wheat (*Triticum aestivum*). *Weed Sci* 39: 175-179.
- D'EGIDIO MG, NARDI S, VALLEGA V, 1993: Grain, flour and dough characteristics of selected strains of diploid wheat, *Triticum monococcum* L. *Cereal Chem* 70: 298-303.
- DOROFEEV VF, FILATENKO AA, MIGUSHOVA EF, UDACZIN RA, JAKUBZINER MM, 1979: Wheat, Vol. 1. In: Dorofeev VF, Korovina ON (Eds.), *Flora of cultivated plants. Kolos, Leningrad* (in Russian).
- DOTLAČIL L, STEHNO Z, FABEROVÁ I, MICHALOVÁ A, 2002: Research, conservation and utilisation of plant genetic resources and agro-biodiversity enhancement - Contribution of the Research Institute of Crop Production Prague-Ruzyně. *Czech J Genet Plant Breed* 38: 3-15.
- DOTLAČIL L, HERMUTH J, STEHNO Z, DVOŘÁČEK V, BRADOVÁ J, LEIŠOVÁ L, 2010: How can wheat landraces contribute to present breeding? *Czech J Genet Plant Breed* 46: 70-74.
- FELDMAN M, 2001: Origin of cultivated wheat. In: Bonjean HP, Angus WJ (Eds.), *The world wheat book: a history of wheat breeding*, 3-56. Lavoisier Publishing, Paris.
- FINCKH MR, 2008: Integration of breeding and technology into diversification strategies for disease control in modern agriculture. *Eur J Plant Pathol* 121: 399-409.
- FRÉGEAU-REID J, ABDEL-AAL ESM, 2005: Einkorn: A Potential Functional Wheat and Genetic Resource. In: Abdel-Aal ESM, Wood P (Eds.), *Speciality grains for food and feed*, 37-62. Am Ass Cereal Chem, St. Paul, MN.
- GIULIANI A, KARAGÖZ A, ZENCIRCI N, 2009: Emmer (*Triticum dicoccon*) production and market potential in marginal mountainous areas of Turkey. *Mt Res Dev* 29: 220-229.
- HEISEY PW, SMALE M, BYERLEE D, SOUZA E, 1997: Wheat rusts and the costs of genetic diversity in the Punjab of Pakistan. *Am J Agric Econ* 79: 726-737.
- KÖHL J, KASTELEIN P, GROENENBOOM DE HAAS L, 2007: Population dynamics of *Fusarium* spp. causing Fusarium head blight. In: Vogelgsang S, Jalli M, Kovács G, Gyula V (Eds.), *Proc COST SUSVAR Workshop Fusarium diseases in cereals - potential impact from sustainable cropping systems*, 1-2 June, Velence, Hungary, pp 6-10. Risø National Laboratory, Denmark.
- KONVALINA P, CAPOUCHOVÁ I, STEHNO Z, MOUDRÝ J, Jr, MOUDRÝ J, 2010: Weaknesses of emmer wheat genetic resources and possibilities of its improvement for low-input and organic farming systems. *J Food Agric Env* 8: 376-382.
- LAMMERTS VAN BUEREN ET, STRUIK PC, JACOBSEN NE, 2002: Ecological concepts in organic farming and their consequences for an organic crop ideotype. *Neth J Agric Sci* 50: 1-26.
- MÄDER P, FLIESSBACH A, DUBOIS D, GUNST L, FRIED P, NIGGLI U, 2002: Soil fertility and biodiversity in organic farming. *Science* 296: 1694-1697.
- MARCONI M, CUBADDA R, 2005: Emmer wheat. In: Abdel-Aal ESM, Wood P (Eds.), *Speciality grains for food and feed*, 63-108. Am Ass Cereal Chem, St. Paul.
- MARINO S, TOGNETTI R, ALVINO A, 2009: Crop yield and grain quality of emmer populations grown in central Italy, as affected by nitrogen fertilization. *Eur J Agron* 31: 233-240.
- MZE, 2009: Situační a výhledová zpráva obiloviny 2009, MZe, Praha.
- MZE, 2010: Ročenka ekologického zemědělství v České republice 2009. MZe, Praha.
- NEDĚLNÍK J, MORAVCOVÁ H, HAJŠLOVÁ J, LANCOVÁ K, VÁŇOVÁ M, SALAVA J, 2007: *Fusarium* spp. in wheat grain in the Czech Republic analysed by PCR method. *Plant Prot Sci* 43: 135-137.
- ØSTERGÅRD H, FINCKH MR, FONTAINE L, GOLDRINGER I, HOAD SP, KRISTENSEN K, LAMMERTS VAN BUEREN ET, MASCHER F, MUNKI L, WOLFE MS, 2009: Time for a shift in crop production: embracing complexity through diversity at all levels. *J Sci Food Agric* 89: 1439-1445.
- PAGNOTTA MA, MONDINI L, ATALLAH MF, 2005: Morphological and molecular characterization of Italian emmer wheat accessions. *Euphytica* 146: 29-37.
- SERPOLAY E, DAWSON JC, CHABLE V, LAMMERTS VAN BUEREN ET, OSMAN A, PINO S, SILVERI D, GOLDRINGER I, 2011: Diversity of different farmer and modern wheat varieties cultivated in contrasting organic farming conditions in western Europe and implications for European seed and variety legislation. *Org Agric* 1: 127-145.
- SHEWRY PR, 2009: Wheat. *J Exp Bot* 60: 1537-1553.
- STEHNO Z, 2001: Možnosti pěstování a využití pluchatých pšeníc. In: Michalová A, Lehká E (Eds.), *Pěstování a využití některých opomíjených a netradičních plodin v ČR*, 21 března, 4-7. VÚRV, Prague-Ruzyně.
- SUCHOWILSKA E, KANDLER W, SULYOK M, WIWART M, KRŠKA R, 2009: Mycotoxins profiles in the grain of *Triticum monococcum*, *Triticum dicoccon* and *Triticum spelta* after head infection with *Fusarium culmorum*. *J Sci Food Agric* 90: 556-565.
- TROCCOLIA, CODIANNI P, 2005: Appropriate seeding rate for einkorn, emmer, and spelt grown under rainfed condition in southern Italy. *Eur J Agron* 22: 293-300.
- WIESER H, MUELLER KJ, KOEHLER P, 2009: Studies on the protein composition and baking quality of einkorn lines. *Eur Food Res Technol* 229: 523-532.
- WILLER H, KILCHER L, 2009: The world of organic agriculture. Statistics and emerging trends 2009. IFOAM, Bonn, and FiBL, Frick.
- WOLFE MS, BARESEL JP, DESCLAUX D, GOLDRINGER I, HOAD S, KOVACS G, LÖSCHENBERGER F, MIEDANER T, ØSTERGÅRD H, LAMMERTS VAN BUEREN ET, 2008: Developments in breeding cereals for organic agriculture. *Euphytica* 163: 323-346.
- ZAHARIEVA M, AYANA NG, AL HAKIMI A, MISRA SC, MONNEVEUX P, 2010: Cultivated emmer wheat (*Triticum dicoccon* Schrank), an old crop with a promising future: a review. *Genet Resour Crop Evol* 57: 937-962.

Purpurweizen - geht's noch bunter?

Steigerung des Anthocyangehaltes in Blaukorn-×Purpurweizen Kreuzungen

Increase of the total amount of anthocyanins in progenies of blue aleurone×purple pericarp wheat crosses

Johanna Baron¹, Susanne Siebenhandl-Ehn², Sharifah Nabihah Binti Syed Jaafar³,
Stefan Böhmdorfer³, Thomas Rosenau³ und Heinrich Grausgruber^{1*}

Abstract

Anthocyanins in wheat grains are expressed either in the pericarp (purple pericarp) or aleurone layer (blue aleurone). Due to their antioxidant activity anthocyanins are of increasing interest for nutritionists, food scientists and plant breeders. Previous studies revealed that different anthocyanins are present in wheat varieties carrying genes either for the purple pericarp or the blue aleurone trait. It was hypothesized that the total concentration of anthocyanins could be increased by combining the different genes for purple pericarp and blue aleurone. Progenies from one-, three- and four-way crosses between red, purple and blue grained varieties were selected over several cycles by visual scoring of seed colour. In 2011 bulks were evaluated for their total anthocyanin content by UV-VIS spectrophotometry. The results showed that the majority of the progenies were within the range of the purple and blue grained check varieties, however, single bulks were identified with increased anthocyanin concentration. Further studies (e.g. HPLC-MS) are ongoing to confirm the combination of anthocyanins in these progenies and to test the environmental stability of the pigmentation.

Keywords

Anthocyanins, antioxidant capacity, blue aleurone, purple pericarp, *Triticum aestivum*

Einleitung

Anthocyane gehören zu den pflanzlichen Sekundärmetaboliten. In der Klasse der Flavonoide bilden sie die größte Gruppe der wasserlöslichen Pigmente. Ihr Farbspektrum reicht von rot über blau bis hin zu violett und schwarz (ANTAL et al. 2003). In Pflanzen haben Anthocyane zwei wesentliche Funktionen. Zum einen sind sie als Blütenfarbstoff für die Anlockung von Bestäubern verantwortlich, zum anderen haben sie antioxidative Eigenschaften (ESCRIBANO-BAILÓN et al. 2004). Die antioxidative Eigenschaft ist auch

für die menschliche Ernährung interessant. *In vitro* Versuche zeigten im Vergleich zu Vitamin C und E wesentlich höhere antioxidative Kapazitäten. Weitere ernährungsphysiologische Bedeutung erhalten die Anthocyane durch ihre antikanzerogene, antimikrobielle, entzündungshemmende und antithrombotische Wirkung. Sie erhöhen desweiteren das HDL Cholesterin, beeinflussen den Blutdruck und Blutzucker und können die Dunkeladaptation des menschlichen Auges verbessern. Zu den bisher durchgeführten Studien ist allerdings anzumerken, dass es sich vielfach um *in vitro* Versuche handelte und die Konzentration der Anthocyane oftmals über der physiologisch verwertbaren lag. Dies ist vor allem auf die geringe Bioverfügbarkeit der Anthocyane zurückzuführen. Die ernährungsphysiologischen Effekte der Anthocyane können deshalb derzeit nicht sicher bewertet werden (WATZL et al. 2002, ANTAL et al. 2003).

Getreide ist eines der Hauptnahrungsmittel der Welt. Aufgrund der positiven Eigenschaften der Anthocyane und der immer größer werdenden Bedeutung gesunder Ernährung, werden blau- oder violettkörnige Weizen immer interessanter. Erstmals wurde blaukörniger Weizen wahrscheinlich in einem Brief mit Probenmaterial von Georg Kattermann, Freising, an Erich Tschermak von Seysenegg, Wien, erwähnt (KATTERMANN 1929). Ob diese Probe Ausgangsmaterial für die genetische Ressource Tschermaks Blaukorn war ist ungeklärt. Violette Weizenkörner wurden bereits zuvor vom Forschungsreisenden Johann Maria Hildebrandt von der Küste des Roten Meeres nach Europa gebracht.

Diese wurden 1879 der Öffentlichkeit vorgestellt, konnten jedoch aufgrund ihres schlechten Zustands nicht mehr ausgesät werden. Der violettkörnige Hartweizen wurde als *Triticum durum* var. *arraseita* klassifiziert (WITTMACK 1906, ZEVEN 1991). Erste züchterische Arbeiten wurden 1913 in Cambridge durchgeführt mit Material, welches 1905 aus Abessinien eingeführt wurde (CAPORN 1918). Durch mehrmalige Rückkreuzungen mit einer adaptierten Sorte in Neuseeland entsteht aus diesem Material 1981 die erste zugelassene hexaploide Purpurweizensorte Konini (COPP 1965, GRIFFIN 1987).

¹ Universität für Bodenkultur, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abteilung für Pflanzenzüchtung, Konrad Lorenz Str. 24, A-3430 TULLN

² Universität für Bodenkultur, Department für Lebensmittelwissenschaften und -technologie, Inst. für Lebensmitteltechnologie, Muthgasse 18, A-1190 WIEN

³ Universität für Bodenkultur, Department für Chemie, Abteilung für Organische Chemie, Holz-, Zellstoff- und Faserchemie, Konrad Lorenz Straße 24, A-3430 TULLN

* Ansprechpartner: Heinrich GRAUSGRUBER, heinrich.grausgruber@boku.ac.at

Bei den blaukörnigen Varietäten liegen die Anthocyane in der Aleuronschicht. Im Gegensatz dazu sind sie bei violettkörnigem Weizen in der Samenschale zu finden. Für die Ausprägung des blauen Aleurons (*blue aleurone*) sind zwei Gene verantwortlich (*Ba1* und *Ba2*). *Ba1* hat seinen Ursprung in der Quecke (*Agropyron* sp.); das Gen liegt in Chromosomentranslokationen (4BS·4EL oder 4BS·4BL-4EL) vor. *Ba2* stammt aus dem (wilden) Einkorn (*T. monococcum/boeoticum*) und ist als Chromosomensubstitution, (4A)4A^m bzw. (4B)4A^m, vorhanden (JAN et al. 1980, ZELLER et al. 1990, MORRISON et al. 2004). Für die violette Samenschale (*purple pericarp*) sind mehrere Gene beschrieben: *Pp1*, *Pp3a* und *Pp3b* (ehemals als *Pp2* bezeichnet). Die Gene liegen auf den Chromosomen 2A und 7B (DOBROVLSKAYA et al. 2006). Von PIECH und EVANS (1978) und LI et al. (2010) wurde auch ein Gen auf Chromosom 3A lokalisiert.

Die Merkmale blaues Aleuron bzw. violette Samenschale wurden zunächst hauptsächlich als genetische Marker verwendet. So kamen sie beispielsweise in der Hybridzüchtung zum Einsatz (BARABÁS 1992, ZHOU et al. 2006), zur Bestimmung der Auskreuzungsrate (GRIFFIN 1987, HUCL und MATUS-CÁDIZ 2001, MATUS-CÁDIZ et al. 2004, HANSON et al. 2005, LAWRIE et al. 2006) oder zur Trennung verschiedener Weizenqualitäten (JENSEN et al. 1962, ST PIERRE et al. 1980). MORRISON et al. (2004) entwickelten auch ein Protokoll zur Auffindung von Apomixis in Weizen. Innovative Lebensmittel aus violettkörnigen Weizen wurden erstmals in Neuseeland auf den Markt gebracht (LINDLEY und LARSEN 1997). Seit 2006 gibt es mit der Marke PurPur auch in Österreich Vollkornprodukte aus Purpurweizen (GRAUSGRUBER et al. 2006a, BACKALDRIN 2008).

ABDEL-AAL et al. (2006) und GRAUSGRUBER et al. (2006b) zeigten mit HPLC, dass die vorhandenen Anthocyane von blau- und violettkörnigen Weizen unterschiedlich sind. Eine Steigerung des Gesamtanthocyangehaltes durch gezielte Kombination unterschiedlicher Anthocyanenetik sollte somit möglich sein. Ziel der vorliegenden Arbeit war es zu prüfen, ob diese Hypothese in ausgewählten Nachkommenschaften von Blaukorn-×Purpurweizen Kreuzungen bestätigt werden kann.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Es wurden 15 Standardsorten (10 Purpur, 5 Blaukorn) sowie 76 Linien aus Einfach-, Dreiwege- und Doppelkreuzungen (Tabelle 1) untersucht. Bei Eltern und Nachkommenschaften handelte es sich sowohl um Winter- als auch Sommerweizen. Alle Proben stammten aus der Ernte 2011 vom Standort Raasdorf der Versuchswirtschaft Groß-Enzersdorf der Universität für Bodenkultur.

Chemische Analysen

Für die Extraktion der Anthocyane wurde das Probenmaterial mit einer Zyklonmühle (Modell Twister, Retsch, Haan) bei 12000 U·min⁻¹ und einem 1 mm Siebeinsatz vermahlen. Bis zur Extraktion wurde das Vollkornmehl bei -20°C gelagert.

Tabelle 1: Untersuchte Kreuzungskombinationen von violett- (Pp), blau- (Ba) und rotkörnigen (R) Weizen (reziproke Kombinationen nicht extra ausgewiesen)

Table 1: Analysed cross combinations of purple (Pp), blue (Ba) and red (R) grained wheat (reciprocal crosses are not indicated separately)

Einfachkreuzung	Dreiwegekreuzung	Doppelkreuzung
<i>R</i> × <i>Ba</i>	(<i>R</i> × <i>R</i>)× <i>Pp</i>	(<i>R</i> × <i>Ba</i>)×(<i>Ba</i> × <i>Pp</i>)
<i>R</i> × <i>Pp</i> ¹	(<i>R</i> × <i>Ba</i>)× <i>Pp</i>	(<i>R</i> × <i>Pp</i>)×(<i>R</i> × <i>Pp</i>)
<i>Ba</i> × <i>Pp</i>	(<i>R</i> × <i>Pp</i>)× <i>Ba</i> (<i>R</i> × <i>Pp</i>)× <i>Pp</i> (<i>Ba</i> × <i>Ba</i>)× <i>Pp</i> (<i>Ba</i> × <i>Pp</i>)× <i>R</i>	(<i>R</i> × <i>Pp</i>)×(<i>Ba</i> × <i>Ba</i>)

¹inkl. einer tetraploiden Kreuzung

Die Anthocyanextraktion wurde mit leichten Veränderungen wie bei ABDEL-AAL und HUCL (1999) beschrieben durchgeführt. Hierzu wurde 1 g Vollkornmehl in ein 15 ml Zentrifugenröhrchen (Falcon™-Typ) eingewogen und 8 ml Lösungsmittel (MeOH:1 M HCl, 85:15, v/v, pH 0,95±0,05) hinzugefügt. Die Lösung wurde am Vortex Schüttler und anschließend auf einem Schüttler bei 150 U·min⁻¹ für 30 min inkubiert. Zur Trennung des Überstandes vom Feststoff wurden die Proben 5 min bei 4000 U·min⁻¹ zentrifugiert (Centrifuge 5810, Eppendorf AG, Hamburg). Die Überstände wurden in einem 25 ml Messkolben gesammelt und nach dreimaliger Extraktion auf das Endvolumen mit Lösungsmittel aufgefüllt.

Der Gehalt der Anthocyane wurde spektrophotometrisch bestimmt. Für die Kalibrierung des Spektrophotometers (U-1100, Hitachi Ltd., Tokyo) wurde das Standardpigment Cyanidin-3-glukosid (Extrasynthese, Genay) verwendet. Die Extrakte wurden bei einer Wellenlänge von 525 nm gegen das reine Lösungsmittel gemessen. Der Gesamtanthocyangehalt (TAC) in mg C-3-glc-Äquivalente·100 g⁻¹ Probe wurde nach folgender Formel berechnet:

$$TAC = \frac{\Delta E + 0,0556}{0,0761} \times \frac{\text{Extraktvolumen (mL)}}{1000 \text{ mL}} \times \frac{1}{\text{Einwaage (g)}} \times \frac{100}{\text{TM (\%)}}$$

Die gesamte TAC Variationsbreite wurde in neun Klassen aufgeteilt und die Frequenz der Kreuzungslinien in den entsprechenden Anthocyanklassen bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Ein Großteil der Kreuzungslinien haben Anthocyangehalte, die im Bereich der violett- bzw. blaukörnigen Standardsorten liegen (Abbildung 1). Es gibt jedoch auch Nachkommen, die höhere Anthocyangehalte als die *Ba* und *Pp* Standardsorten aufweisen, sowie weissekörnige (*r*) Nachkommen mit Gehalten niedriger als die rotkörnigen (*R*) Sorten. Der Gesamtgehalt an Anthocyanen konnte somit tatsächlich in manchen Linien durch die gezielte Kombination der *blue aleurone* und *purple pericarp* Genetik gesteigert werden. Eine weitere Steigerung des Anthocyangehaltes dürfte durchaus noch möglich sein, da die Pigmentierung der analysierten Proben (Ramsche mehrerer Ähren) teilweise noch nicht ganz einheitlich war. Die Linien sind hinsichtlich der Kornfarbe noch nicht vollständig homogen.

Ob die erhöhten Anthocyangehalte tatsächlich auf eine Kombination der Anthocyanenspektren von blau- und vio-

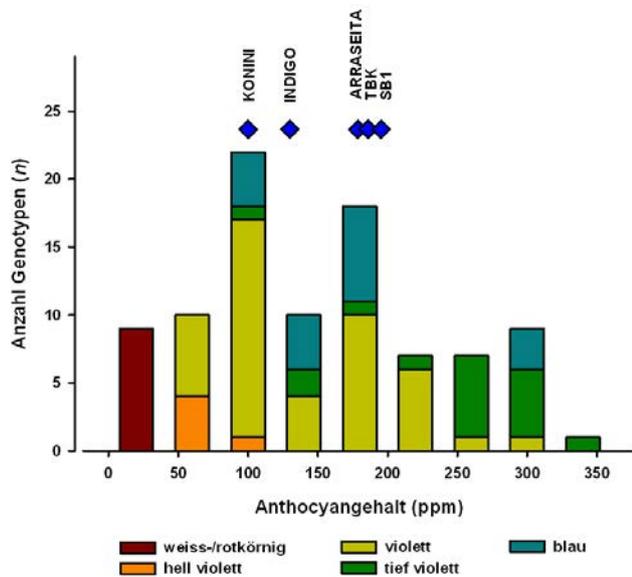


Abbildung 1: Anthocyanin Gehalt (ppm) ausgewählter Standard-sorten und der Kreuzungslinien (Anzahl Linien in entsprechenden Anthocyan-Klassen; Kornfarbe entsprechend visueller Bonitur)

Figure 1: Total anthocyanin content (ppm) of selected check varieties and offspring (frequency of breeding lines in anthocyan classes; seed colour according to visual scoring)

lett-körnigen Weizen zurückzuführen ist wird derzeit mittels HPLC-MS überprüft. Erste Ergebnisse bestätigen die Kombination verschiedener Anthocyane für einzelne Genotypen die auf Grund der visuellen Kornbonituren (Abbildung 2) als tief violett eingestuft wurden. Die Selektion durch die visuelle Bonitur der Kornfarbe ist allerdings nur bedingt erfolgreich: zwar besitzt die Mehrheit der Genotypen mit hohen Gehalten eine tiefviolette Kornfarbe, es wurden aber auch Genotypen identifiziert die nur als violett bzw. blau eingestuft wurden und dennoch sehr hohe Anthocyan Gehalte zeigten. Umgekehrt wurden vereinzelt Genotypen als tief violett bonitiert deren Anthocyan Gehalt nur durchschnittlich ist (Abbildung 1). Neben den bekannten Hauptgenen dürfte die Intensität der Kornfarbe auch von Umwelteinflüssen und dem genetischen Hintergrund (pleiotropische bzw. epista-



Abbildung 2: Unterschiedliche Intensitäten der Kornfarbe: weiss, rot, hell violett, tief violett, blau, violett (im Uhrzeigersinn von links oben)

Figure 2: Different intensities of seed colour: white, red, light purple, dark purple, blue, purple (clockwise from top left)

tische Effekte) abhängig sein (DOBROVOLSKAYA et al. 2006, McINTOSH et al. 2008). Eine sichere Identifizierung der unterschiedlichen Gene wäre auch mit Hilfe molekularer Marker möglich, allerdings sind bisher nur für einige Gene molekulare Marker beschrieben (DUBCOVSKY et al. 1996, DOBROVOLSKAYA et al. 2006, SINGH et al. 2007, KHLESTKINA et al. 2010, LI et al. 2010).

Wie bereits erwähnt wird die Anthocyan-Biosynthese neben der Genetik auch von der Umwelt beeinflusst. Umwelteinflüsse die die Anthocyan-Biosynthese steigern können sind z.B. erhöhte UV-B Einstrahlung, kalte Temperaturen, Trockenstress und Ozonbelastung (CHALKER-SCOTT 1999). Durch das Auffinden optimaler Produktionsgebiete für die einzelnen Genotypen könnte somit ebenfalls eine höhere Konzentration an Anthocyanen erreicht werden.

Danksagung

Der Dank geht an Robert Metzger (OSU, Corvallis), Harold Bockelman (USDA-ARS, Aberdeen), Andreas Börner (IPK, Gatersleben), Zdenek Stehno (RICP, Praha), Wolfgang Kainz (AGES, Linz) und Michael Mackay (AWCC, Tamworth) für die Bereitstellung von Ausgangsmaterial.

Literatur

- ABDEL-AAL ESM, HUCL P, 1999: A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. *Cereal Chem* 76: 350-354.
- ABDEL-AAL ESM, YOUNG JC, RABALSKI I, 2006: Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J Agric Food Chem* 54: 4696-4704.
- ANTAL DS, GÁRBAN G, GÁRBAN Z, 2003: The anthocyanins: biologically-active substances of food and pharmaceutical interest. *Ann Univ Dunarea de Jos Galati VI - Food Technol* 26: 106-115.
- BACKALDRIN, 2008: PURPUR-ne Geheimnisse. Presseinformation, Backaldrin Österreich - The Kornspitz Company GmbH, Asten.
- BARABÁS Z, 1992: A new era in the production of hybrid varieties? *Hung Agric Res* 1 (3): 17-21.
- CAPORN ASC, 1918: On a case of permanent variation in the glume lengths of extracted parental types and the inheritance of purple colour in the cross *Triticum polonicum \times *T. eloboni*. *J Genet* 7: 259-280.*
- CHALKER-SCOTT L, 1999: Environmental significance of anthocyanins in plant stress responses. *Phytochem Photobiol* 70: 1-9.
- COPP LGL, 1965: Purple grain in hexaploid wheat. *Wheat Inf Serv* 19-20: 18.
- DOBROVOLSKAYA O, ARBUZOVA VS, LOHWASSER U, RÖDER MS, BÖRNER A, 2006: Microsatellite mapping of complementary genes for purple grain colour in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 150: 355-364.
- DUBCOVSKY J, LUO MC, ZHONG GY, BRANSTEITTE R, DESAI A, KILIAN A, KLEINHOF S, DVORAK J, 1996: Genetic map of diploid wheat, *Triticum monococcum* L., and its comparison with maps of *Hordeum vulgare* L. *Genetics* 143: 983-999.
- ESCRIBANO-BAILÓN T, SANTOS-BUELGA C, RIVAS-GONZALO JC, 2004: Anthocyanins in cereals. *J Chromatography A* 1054: 129-141.
- GRAUSGRUBER H, SIEBENHANDL S, ETICHA F, BERGHOFER E, 2006a: Farbenspiel der Natur - Purpurgetreide. *Der fortschrittliche Landwirt* 9/2006: 60-61.
- GRAUSGRUBER H, SIEBENHANDL S, ETICHA F, BERGHOFER E, 2006b: Carotenoids and anthocyanins in wheat (*Triticum* sp.). *Vortr Pflanzenzüchtg* 69: 117-125.

- GRIFFIN WB, 1987: Outcrossing in New Zealand wheats measured by occurrence of purple grain. *NZ J Agric Res* 30: 287-290.
- HANSON BD, MALLORY-SMITH CA, SHAFII B, THILL DC, ZEMETRA RS, 2005: Pollen-mediated gene flow from blue aleurone wheat to other wheat cultivars. *Crop Sci* 45: 1610-1617.
- HUCL P, MATUS-CÁDIZ MA, 2001: Isolation distances for minimizing out-crossing in spring wheat. *Crop Sci* 41: 1348-1351.
- JAN CC, DVOŘÁK J, QUALSET CO, SOLIMAN KM, 1980: Selection and identification of a spontaneous alien chromosome translocation in wheat. *Genetics* 98: 389-398.
- JENSEN NF, TYLER LJ, DRISCOLL CJ, 1962: Markers for wheats of feed quality. *Ann Wheat Newsl* 8: 57-58.
- KATTERMANN G, 1929: Brief vom 17. Oktober an Professor Tschermak. Nachlass Erich Tschermak von Seysenegg, Österreichische Akademie der Wissenschaften, Wien.
- KHLESTKINA EK, RÖDER MS, BÖRNER A, 2010: Mapping genes controlling anthocyanin pigmentation on the glume and pericarp in tetraploid wheat (*Triticum durum* L.). *Euphytica* 171:65-69.
- LAWRIE RG, MATUS-CÁDIZ MA, HUCL P, 2006: Estimating out-crossing rates in spring wheat cultivars using the contact method. *Crop Sci* 46: 247-249.
- LI XP, LAN SQ, ZHANG YL, LIU YP, 2010: Identification of molecular markers linked to the genes for purple grain color in wheat (*Triticum aestivum*). *Genet Resour Crop Evol* 57: 1007-1012.
- LINDLEY TN, LARSEN NG, 1997: Cereal processing in New Zealand. Inversion, diversification, innovation, management. In: Campbell GM, Webb C, McKee SL (Eds.), *Cereals - Novel uses and processes*, pp. 273-279. Plenum Press, New York.
- MATUS-CÁDIZ MA, HUCL P, HORAK MJ, BLOMQUIST LK, 2004: Gene flow in wheat at the field scale. *Crop Sci* 44: 718-727.
- McINTOSH RA, YAMAZAKI Y, DUBCOVSKY J, ROGERS J, MORRIS C, SOMERS DJ, APPELS R, DEVOS KM, 2008: Catalogue of gene symbols for wheat. [Internet: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/wgc/2008/>; verifiziert 20 Feb 2012]
- MORRISON LA, METZGER RJ, LUKASZEWSKI AJ, 2004: Origin of the blue-aleuron gene in Sebesta Blue wheat genetic stocks and protocol for its use in apomixis screening. *Crop Sci* 44: 2063-2067.
- PIECH J, EVANS LE, 1978: Monosomic analysis of purple grain colour in hexaploid wheat. *Z Pflanzenzüchtg* 82: 212-217.
- SINGH K, GHAI M, GARG M, CHHUNEJA P, KAUR P, SCHNURBUSCH T, KELLER B, DHALI WAL HS, 2007: An integrated molecular linkage map of diploid wheat based on a *Triticum boeoticum* \times *T. monococcum* RIL population. *Theor Appl Genet* 115: 301-312.
- ST PIERRE CA, GAUTHIER FM, PELLETIER GJ, BASTIEN D, 1980: Le blé de printemps Laval-19. *Can J Plant Sci* 60: 723-725.
- WATZL B, BRIVIBA K, RECHKEMMER G, 2002: Anthocyane. *Ernährungs-Umschau* 49: 148-150.
- WITTMACK L, 1906: Violette Weizenkörner. *Sitzungsberichte der Gesellschaft Naturforschender Freunde zu Berlin* 1906 (4): 103-108.
- ZELLER FJ, CERMEÑO MC, MILLER TE, 1990: Cytological analysis on the distribution and origin of the alien chromosome pair conferring blue aleurone color in several European common wheat (*Triticum aestivum* L.) strains. *Theor Appl Genet* 81: 551-558.
- ZEVEN AC, 1991: Wheats with purple and blue grains: a review. *Euphytica* 56: 243-258.
- ZHENG Q, LI B, LI H, LI Z, 2009: Utilization of blue-grained character in wheat breeding derived from *Thinopyrum ponticum*. *J Genet Genomics* 36: 575-580.
- ZHOU K, WANG S, FENG Y, LIU Z, WANG G, 2006: The 4E-*ms* system of producing hybrid wheat. *Crop Sci* 46: 250-255.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält alle Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2011) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Beispiele zur genetischen Variabilität bei diploiden Artkreuzungen zwischen Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*) und Wiesenschwingel (*Festuca pratensis*)

Genetic variability of diploid hybrids between English ryegrass (*Lolium perenne*) and meadow fescue (*Festuca pratensis*)

Tatjana Lunenberg^{1*} und Stephan Hartmann

Abstract

The amount of meadow fescue (*Festuca pratensis*) in German swards decreased due to more intensive grassland production. As a consequence farmers sowed less and less grassland mixtures including higher percentages of *F. pratensis*. Hence, a new breeding program focused on *Festulolium* started in 2005 at the State Bavarian Research Centre for Agriculture. The main objective was to extend genetic diversity in *F. pratensis* for youth development and tolerance to intensive farming (*Festulolium* as transfer-species). One origin was the diploid Bavarian *Lolium perenne* gene pool with a high level of winter hardiness and fast mass growth after cutting. For initial crosses diploid *F. pratensis* plants were used. During summer 2011 the existing F₁, F₂ and BC₁ plants were evaluated. The tendencies of different varieties to inherit the traits heading date, mass growth, density, rust and leaf spot resistance, and fertility were estimated. The offspring of varieties Matiz, Kabota and Gladio got the best ratings of mass growth and density. The offspring of varieties Orleans and Gladio had highest seed yield. The male and female fertility could be partially restored via crossing different F₁ plants. GISH analyses of F₁ and BC₁ plants visualised the rapid loss of *Festuca* chromatin in further breeding generations. The existing plants form a highly variable initial population which can be used for further research and breeding and will be extended in the future.

Keywords

Diploid, *Festuca pratensis*, *Festulolium*, genetic variability, introgression, *Lolium perenne*

Einleitung

Die Tier- und Pflanzenwelt unterlag von Beginn an dem Zwang sich den verändernden Umweltbedingungen anzupassen. Die moderne Landwirtschaft ist jedoch auf eine schnellere Adaption angewiesen, um die Nahrungsmittelproduktion weltweit nachhaltig sichern zu können. Die Herausforderungen des Klimawandels erhöhen den Druck

zu rascheren Anpassungen. Hier liegt die Verantwortung im Bereich der Tier- und Pflanzenzüchtung. Sie hat seit den Anfängen der Landwirtschaft versucht, die Qualität und den Ertrag landwirtschaftlicher Produkte auch unter veränderten Rahmenbedingungen zu erhalten und zu verbessern.

Das bedeutet für den Bereich der Pflanzenzüchtung u.a. die Übertragung von Resistenzen oder Toleranzen gegen etablierte und auch neue biotische und abiotische Stressoren in leistungsfähige Zuchtsorten. So können Kulturpflanzen auch in Gebieten angebaut werden, die nicht den klimatischen Bedingungen des Ursprungslandes entsprechen oder sich an die Veränderung klimatischer Bedingungen anpassen. Voraussetzung ist hierzu das notwendige Maß an genetischer Variabilität im Ausgangsmaterial eines Zuchtprogrammes. Mit Hilfe des Einkreuzens von Merkmalen aus Landsorten, Wildpflanzen, der Auslösung von Mutationen oder dem Einsatz von Gentechnik kann die Variation im etablierten Material geschaffen werden.

Durch die heute in der landwirtschaftlichen Praxis höhere Nutzungsintensität verlor Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.) in großen Teilen des bayerischen Grünlandes gegenüber anderen Arten stark an Konkurrenzkraft. Damit einher ging der Verlust seiner oft bestandsprägenden hohen Anteile in den Aufwüchsen (HEINZ und KUHN 2008). In Folge der Bestandsveränderung im Grünland nimmt auch seine Tonnage bei den eingesetzten Ansaat- und Nachsaatmischungen ab. Dies wiederum führt zu einer Verarmung des genetischen Pools nicht nur bayerischer Grünlandbestände.

Der Einsatz von *Festulolium* als Transferart hat am Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung (IPZ) der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) das Ziel, durch die Verbesserung der Vielschnittverträglichkeit die Konkurrenzkraft des Wiesenschwingels durch rekurrente Rückkreuzungen zu erhöhen. Winterhärte und Wuchstyp von *F. pratensis* sollen dabei erhalten bleiben. Als Kreuzungspartner wurden Wiesenschwingel (*Fp*) und Deutsches Weidelgras (*Lolium perenne* L.) (*Lp*) ausgewählt. Letzteres ist das am stärksten züchterisch bearbeitete Futtergras und durch seine hervorragende Schmackhaftigkeit, Vielschnittverträglichkeit und hohen Ertrag sehr wertvoll. Der Wie-

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 4, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Tatjana LUNENBERG, tatjana.lunenberg@lfl.bayern.de

senschwingel hat einen etwas geringeren Futterwert, wird im Grünland durch Vielschnitt aus dem Pflanzenbestand verdrängt, besticht jedoch durch seine Toleranzen gegenüber abiotischen Stress. Die Hybriden der Gattungen *Festuca* und *Lolium* werden als *Festulolium* bezeichnet.

Im Folgenden werden die bisherigen Ergebnisse von Arbeiten zur Artbastardisierung vorgestellt, die seit 2005 mit dem Ziel die genetische Variabilität bei Futtergräsern zu erhöhen bei IPZ laufen. Der erste Schritt für diesen Zuchtgang ist die Schaffung einer Ausgangspopulation, die sich durch Kreuzungsbarrieren jedoch als schwierig erweist. Vor allem die geringe männliche und weibliche Fertilität der F_1 Pflanzen stellt ein Problem für die weitere Züchtung dar. Um die gewünschte phänotypische und genetische Variabilität zu erzielen, müssen daher Methoden etabliert werden, die diese Kreuzungsbarrieren überwinden und das Material weiteren Züchtungsschritten zugänglich machen. Nach Etablierung der unter den Rahmenbedingungen der Arbeitsgruppe erfolgversprechendsten Methode sind folgende Fragen zu erörtern:

- (i) In welchem Umfang ist die Kombinationsfähigkeit von Wiesenschwingel und Deutschem Weidelgras von der Kombinationseignung einzelner Individuen oder Sorten abhängig?
- (ii) Gibt es Eigenschaften, die vorwiegend von bestimmten Einzelpflanzen oder Sorten vererbt werden?
- (iii) Treten bei der Kreuzung der Arten *F. pratensis* und *L. perenne* reziproke Effekte auf?
- (iv) Kann die Fertilität der F_1 Pflanzen wieder hergestellt werden?

Die vorliegende Arbeit sollte die genetische Variation der bereits vorhandenen *Festulolium* Population erfassen und Impulse für die folgenden Kreuzungsarbeiten geben.

Material und Methoden

Aufgrund unzureichenden Zuchtfortschrittes beim Merkmal Vielschnittverträglichkeit begann man an der LfL 2005 mit der Etablierung der Gattungsbastardisierung zur Erweiterung der genetischen Variabilität bei Gräsern. Aufgrund des zu bearbeitenden Genpools konzentrierte man sich bewusst auf Kreuzungen von diploidem Material bei Deutschem Weidelgras und Wiesenschwingel. Zu Beginn wurden verschiedene Methoden auf ihre Eignung unter den Rahmenbedingungen in der Arbeitsgruppe geprüft. Hierzu griff man auf bereits vorhandenes und vernalisiertes Sortenmaterial des Beobachtungssortiments (Parzellenanlage) zurück, da sich der Aufwand eines speziellen Anbaues noch nicht lohnte. Nach der grundsätzlichen Etablierung der Methode, die bei gegebenem Personalaufwand die höchste und sicherste Zahl an Kreuzungsprodukten ergab, wurde nur noch bei mangelnder Pflanzenverfügbarkeit 2007 und 2008 auf Material aus dem Beobachtungssortiment zurückgegriffen. Im Jahr 2006 konnten aufgrund eines Mitarbeiterwechsels keine Kreuzungen durchgeführt werden.

Kreuzungstechnik

Einzelne im Freiland vernalisierte Mutterpflanzen wurden im April vor dem Ährenschieben aus dem Zuchtgarten ausgegraben und ins Gewächshaus umgesiedelt. Hier konnte der Zeitpunkt der Blüte je nach Bedarf vorgezogen

oder verzögert werden, d.h. die Blühzeitpunkte der beiden Elternpflanzen wurden synchronisiert. Das war nötig, da die verwendeten Sorten des Deutschen Weidelgrases aus allen Reifegruppen stammten und damit für das Merkmal Ährenschieben einen Zeitraum von etwa 5 Wochen abdeckten, während die Variabilität bei Wiesenschwingel für dieses Merkmal deutlich geringer war. Laut Bundessortenamt (BSA) betrug diese für die Masse der Sorten lediglich 6 Tage. Erst mit der Zulassung der Sorte Kolumbus wurde diese Spanne 2004 auf 12 Tage ausgeweitet (BSA 2009). Der Zeitraum für das Ährenschieben bei Wiesenschwingel deckte sich somit bei den meisten Sorten mit dem Zeitraum der Weidelgrassorten mit der Einstufung früh bzw. früh bis mittel. Aufgrund der kompakteren Ährenform, die eine leichtere und sichere Kastration versprach, wurde im Regelfall Deutsches Weidelgras als Mutterpflanze verwendet. Im Jahr 2011 wurde erstmals die Eignung von Wiesenschwingel in Bezug auf praktische Handhabbarkeit als Mutterpflanze geprüft. Von Interesse war die Frage, ob evtl. maternale Effekte am verwendeten Material beobachtet werden können.

Kurz vor der Blüte wurden die Ähren oder Rispen kastriert. Mit Hilfe einer Pinzette wurden pro Blütchen drei Antheren entfernt. Der optimale Zeitpunkt für die Kastration war kurz vor dem Austritt der Antheren aus den Blütchen. Kastrierte Ähren oder Rispen wurden mit Papiertüten isoliert, fixiert und fortlaufend nummeriert. Ein bis zwei Tage nach der Kastration waren im Idealfall die Narbenfäden deutlich zu erkennen und es konnte bestäubt werden. Eine Ähre des Deutschen Weidelgrases war, durch die überschaubare Anzahl Blütchen pro Ähre, schneller zu kastrieren als die Doppeltrauben des Wiesenschwingels, so dass *L. perenne* als Mutterpflanze bevorzugt wurde.

Die Pollenspender blühten an einem windstillen Ort. Kurz vor der Blüte wurden 20 Ähren oder Rispen pro Pflanze abgeschnitten und in mit Wasser gefüllte Gefäße gestellt. Dadurch ging der Pollen nicht vor der Bestäubung verloren. Der Stress des Abschneidens und die starke Temperaturerhöhung bewirkten ein starkes Vorziehen des Blühzeitpunktes.

Zur Bestäubung wurden die Isoliertütchen von den Ähren oder Rispen entfernt und der Pollen des jeweiligen Elters darüber gestäubt. Um die Sicherheit der Bestäubung zu erhöhen, wurde aufgrund der Blühbiologie dies an mehreren aufeinander folgenden Tagen wiederholt. Grund hierfür ist, dass nicht alle Blütchen einer Ähre gleichzeitig blühen. Nach Möglichkeit wurde pro Ähre bzw. Rispe immer dieselbe Vaterpflanze verwendet. War dies nicht möglich, griff man auf eine andere Pflanze der gleichen Sorte zurück. Nach der Bestäubung wurden die Ähren oder Rispen wieder mit Papiertütchen isoliert. Ob der Bestäubung eine Befruchtung folgte, war durch das Einziehen der Narbenfäden zu erkennen, ungefähr zwei Tage nach der ersten Bestäubung. Zu diesem Zeitpunkt wurde eine Dicamba 3,6-Dichlor-2-methoxybenzoesäure) Lösung (synthetisches Auxin) in den Halm gespritzt. Der Einstich erfolgte knapp über dem letzten Halmknoten. Eine weitere Einstichstelle wurde direkt unter dem basalen Ährchen gesetzt. So wurde die erfolgreiche Injektion der Flüssigkeit überprüft. Mit Vaseline wurden die verletzten Stellen des Halmes verschlossen, um das Absterben des Triebes zu verhindern. Die Hormonlösung förderte die Entwicklung von Embryonen.

In den Isoliertütchen begannen sich Karyopsen zu bilden. Es folgte der *embryo rescue* Schritt. Zwei Wochen nach der Bestäubung schnitt man die Ähren oder Rispen ab und extrahierte die Karyopsen aus den Blüten. Die Karyopsen wurden desinfiziert und unter dem Binokular auf Embryonen überprüft. Waren diese vorhanden, wurden sie aus dem distalen Bereich der Karyopsen herausgeschnitten. Erleichtert wurde dieser Vorgang durch das wässrige Endosperm. Karyopsen die Mehlkörper gebildet hatten, wurden bei der Herstellung von F_1 Pflanzen als Selbstung aussortiert. Durch die *seed incompatibility* zwischen *Festuca* und *Lolium* wurde davon ausgegangen, dass es zu keiner doppelten Befruchtung kommt. Das heißt, der Spermakern verschmolz nicht mit dem diploidem Embryosackkern zum triploiden Endospermkern und es entstand kein funktionsfähiges Endosperm (GYMER und WHITTINGTON 1973). Bei Rückkreuzungen wurden auch diese Embryonen extrahiert. Die Embryonen wurden in Petrischalen auf Nährmedium gesetzt. Die Spross- und Wurzelbildung setzte bei Raumtemperatur und Dunkelheit ein. Nach weiteren Schritten, in denen die Pflänzchen immer wieder umgesetzt wurden, um Hygiene und Nährstoffvorrat zu erhalten und durch Lichteinwirkung die Chlorophyllbildung anzuregen bzw. zu ermöglichen, wurden sie zwei Monate nach Rettung des Embryos in die Erde gesetzt. Zum Frühjahr hin wurde jede Pflanze dreifach verklont und an zwei Standorten ausgepflanzt. Ein Klon verblieb im Gewächshaus, um Ausfälle auf dem Feld nachpflanzen zu können. So konnte jeder Genotyp an einem Standort (Labor oder Pulling) beerntet werden und verblieb am anderen durch häufigen Schnitt zur Erhaltung im vegetativen Stadium. Letzteres ist nötig, um das Ausfallen von Samen in den Klon selbst zu vermeiden, da in diesem Fall die Gefahr genetisch uneinheitlicher Mischhorste aus Elter und Nachkommen bestehen würde. Der Kreuzungserfolg aus dem Jahr 2005 ging 2008 in die Klonbeobachtung. Im Jahr 2007 blühten ausgewählte Hybriden der Kreuzung 2005 in Weizenisolationen frei ab. Gleichzeitig versuchte man im Gewächshaus die Rückkreuzung mit Wiesenschwingel durch freies Abblühen zu erreichen. Durch mangelnde Blühsynchronisation der Pflanzen war dieses Vorhaben nicht erfolgreich und die Pflanzen blühten ebenfalls frei ab. Aus beiden Versuchen wurde Saatgut geerntet. In den folgenden Jahren ging man zur Erzeugung der Rückkreuzungen wie bei der Herstellung der F_1 Pflanzen vor.

Im Jahr 2011 wurden aus arbeitswirtschaftlichen Erwägungen (Optimierung des Arbeitskraftbedarfs pro grüner verifizierter Nachkommenpflanze) die *Festulolium* (FEL) Pflanzen aufgrund der gewonnenen Erfahrung mit der männlichen Sterilität der geplanten Mutterpflanzen nicht kastriert und direkt in Papiertüten isoliert, mit Wiesenschwingelpollen bestäubt, Dicamba gespritzt und die Embryonen extrahiert.

Genetische Analysen

Um die Gattungskreuzung zu verifizieren und somit Selbstungen auszuschließen, wurden die Nachkommen mit Hilfe von AFLP (*Amplified Fragment Length Polymorphism*) genetisch analysiert. Hierzu musste jede Probe mindestens 100 mg Blattmaterial umfassen. Pro Pflanze wurden eine

A und einen B Probe gezogen, die dann gefriergetrocknet und gemahlen wurden. Das Fingerprinting der DNA erfolgte in drei Schritten: (1) Restriktion der DNA und Ligation oligonukleotider Adapter, (2) selektive Amplifikation ausgewählter Restriktionsfragmente und (3) Gelanalyse der amplifizierten Fragmente. Restriktionsfragmente wurden durch selektive PCR mit Hilfe von vier Primerkombinationen amplifiziert (VOS et al. 1995).

Für die GISH (*Genomic In Situ Hybridization*) Analyse, die von Dr. David Kopecký (Institute of Experimental Botany AS CR, Olomouc, CZ) durchgeführt wurde, mussten saubere, frische Wurzelspitzen fixiert werden. Insgesamt wurden 60 Pflanzen in Hydropony, einer Hydrokultur mit spezieller Nährlösung, kultiviert.

Merkmalsbonituren

Die Bonituren wurden eng angelehnt an die *Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen* sowie den *Richtlinien zur Prüfung der Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit* durchgeführt (BSA 2000, UPOV 2002). Die Pflanzen wurden entweder als Einzelpflanze oder in einer Klonbeobachtung bewertet.

Da die Ausbeute an Embryonen aus der F_1 Generation aufgrund der schlechten Fertilität sehr gering war, wurden Merkmale zur Bestimmung der Fertilität erhoben. Zum einen wurde der Samenertrag von einigen Pflanzungen erfasst. Normalerweise handelte es sich dabei um die Pflanzungen in Pulling. Bei den Pflanzungen am Labor sollten die Einzelpflanzen erhalten bleiben. Zum anderen wurden die Anzahl Embryonen pro entwickelte Körner und Anzahl entwickelter Pflanzen gewertet. Zusätzlich versuchte man, die männliche Fertilität der Nachkommen zu erfassen. Dazu wurde der Pollen mit Iod-Kaliumiodid-Lösung (Lugol'sche Lösung) angefärbt. Bei allen Bonituren wurde die Ausprägung des Merkmals erhoben, das heißt hohe Noten waren z. B. bei der Bonitur Massenbildung als positiv, bei der Bonitur Anfälligkeit gegenüber Rost als negativ zu bewerten.

Statistik

Die Daten wurden je nach Struktur entweder mit einer üblichen Varianzanalyse ausgewertet oder ein gemischtes Modell (*mixed model*) verwendet. Die statistische Auswertung erfolgte mit SAS Vers. 9.2 (SAS Institute, Cary, NC). Für die Bonituren Massenbildung und Dichtigkeit kam die Prozedur MIXED zum Einsatz, die sowohl die wiederholte Bewertung der Einzelpflanzen innerhalb eines Jahres (*repeated measurements*) als auch verschiedene Bonitur- und Nutzungsjahre miteinbeziehen konnte. Die übrigen Bonituren wurden mit der Prozedur GLM analysiert. Auch wenn die Standorte Pulling und Labor räumlich nahe lagen, wurden sie als verschiedene Orte gewertet. Bei Vergleichen zwischen Eltern und Nachkommen wurde auf den Standort Labor zurückgegriffen, da sich nur dort Elternpopulationen befanden. Beim Vergleich der Nachkommenschaften untereinander wurden beide Standorte herangezogen. Der Samenertrag wurde nur an jeweils einem Standort erfasst. Der Kreuzungserfolg 2005 und 2008 wurde am Standort Labor beerntet, während die übrigen Pflanzen am Standort

Pulling beerntet wurden. Die geschätzten Prozentzahlen bei der Bonitur der Pollenfertilität wurden vor der Auswertung mit $\sin\sqrt{x}$ transformiert. Da es sich bei der Auswertung der weiblichen und männlichen Fertilität und des Merkmals Ährenschieben, um jeweils Erhebungen an einem Ort handelte, wurde nur die Variable Familie als Einflussfaktor gewertet. Bei der Auswertung der Krankheitsbonituren wurde der Faktor Ort mit einbezogen. Für die Auswertung der mehrfach wiederholten Bonituren auf Massenbildung und Dichtigkeit wurde jeweils das gemischte Modell angewendet.

Ergebnisse

Genetische Analysen

Bei der AFLP Analyse des Rückkreuzungserfolgs 2010 konnten bei jedem Nachkommen vier Markerstellen gefunden werden, die sowohl die Rückkreuzung verifizierten als auch den Vater identifizierten. Bei späteren Züchtungsgenerationen ist zu erwarten, dass eine höhere Anzahl an Primerkombinationen nötig sein wird. Mit der GISH Methode konnten die *Festuca* und *Lolium* Chromosomen unterschiedlich angefärbt werden. Unter den zu verifizierende F_1 Pflanzen wurden acht Pflanzen als Nachkommen nur von Weidelgras identifiziert. In den meisten Fällen lieferte die AFLP Analyse die gleichen Ergebnisse. Ausnahme waren die Pflanzen FEL26 und FEL27 aus dem Kreuzungsjahr 2007. Dabei handelte es sich um NK Niata. Nach Auswertung der AFLP Daten wurden diese als Kreuzungen identifiziert.

Es wurden zwei BC Pflanzen aus dem Jahr 2010 und fünf Pflanzen aus dem Jahr 2011 untersucht. Nicht alle Wurzelspitzen wiesen eine ausreichende Qualität auf, um die Untersuchung durchzuführen. Von den Pflanzen die mit hinreichender Sicherheit untersucht werden konnten, wiesen vier der Pflanzen aus 2011 mehr *Lolium* als *Festuca* Chromosomen auf. Eine Pflanze aus 2010, die analysiert werden konnte, dagegen 8 *Festuca* und 6 *Lolium* Chromosomen. Nur bei dieser letzten Pflanze konnte man von einer erfolgreichen Rückkreuzung zu *Festuca* ausgehen. Bei den anderen handelte es sich um Rückkreuzungen zu *Lolium*. Es fand sich auch eine Pflanze, die nahezu triploid war. Bei diesen Pflanzen war meist ein rapider Verlust an *Festuca* Chromatin zu beobachten. In jeder der BC Pflanzen waren Translokationen nachweisbar.

Fertilität und Kreuzungsnachkommen

Bei der Analyse der Variable „Erhaltene Nachkommen pro kastrierter Ähre“ innerhalb der verwendeten Deutschen Weidelgräser konnte nur die Sorte Barata ein signifikant besseres Niveau als die übrigen *Lp* Sorten erreichen. Allerdings wurde von dieser Pflanze im Jahr 2011 nur eine Ähre kastriert. Dadurch war nur der Wert einer Wiederholung verfügbar. Die errechnete Signifikanz steht also auf einer sehr geringen Datenbasis, die erst durch weitere Ergebnisse bestätigt werden muss. Immerhin erhielt man aus dieser Barata Ähre 17 Nachkommen. Absolut gesehen war die Sorte Ivana im Vergleich der Deutschen Weidelgräser mit einem Maximum von 26 Nachkommen pro kastrierter Ähre im Jahr 2010 am erfolgreichsten. Bezogen auf *Lp* und *Fp* war

eine Einzelpflanze aus einem Wiesenschwingel Polycross, WSC 29/7, mit 73 Nachkommen pro kastrierter Ähre am ertragreichsten. Bei einem Vergleich der zwei verwendeten Wiesenschwingel mit allen *Lp* Pflanzen stellte sich auch die bereits genannte Einzelpflanze WSC 29/7 als signifikant am besten heraus, wobei sie eine Spannweite von 6 bis 73 Nachkommen pro Ähre aufwies.

Der Unterschied bezüglich der Anzahl der erhaltenen Nachkommen bezogen auf die Anzahl extrahierter Körner war zwischen den F_1 Pflanzen und Wiesenschwingel als Mutter bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 10% signifikant verschieden. Deutsches Weidelgras unterschied sich weder von Wiesenschwingel noch von den F_1 *Festulolii*. Damit ließ sich für das verwendete Material die Aussage treffen, dass Wiesenschwingel tendenziell mehr Embryonen pro Anzahl angelegter Körner bildete. Eines der Hauptprobleme bei der Herstellung von F_1 und BC_1 Nachkommen war, dass oft nicht nur die Endosperm Bildung unterblieb, sondern, dass in den Karyopsen auch die Embryonen fehlten.

Der Erfolg der Kreuzung von Hand hing nicht nur von der Kombinationsfähigkeit der Elternpflanzen ab, sondern hauptsächlich von der technischen Handhabung der Kreuzung. Da die Narbenfäden einer Ähre gestaffelt aus den Spelzen hervortraten, wurden sie mehrmals bestäubt. Fraglich war, ob vom Pollenalter zwei bis drei Tage nach der ersten Bestäubung immer noch genug Pollen zur Verfügung stand und dieser überhaupt noch fertil war. Bei der Verwendung von Wiesenschwingel als Mutterpflanze konnten wesentlich mehr fertile Pflanzen gewonnen werden, wenn deren Zahl auch stark schwankte. Da die Pflanzen aber zum Zeitpunkt des Beitrages noch nicht als Kreuzungsnachkommen verifiziert waren, ist dieses Ergebnis bis dahin nur als Hinweis zu werten. Der Grund für das günstige Ergebnis des Wiesenschwingels lag vermutlich nicht am Einsatz des Wiesenschwingels als Mutterpflanze, sondern daran, dass Deutsches Weidelgras als Vaterpflanze verwendet wurde. Bei einigen Testanfärbungen mit Lugol'scher Lösung erschien der Pollen von Deutschem Weidelgras fertiler. Eventuell war also die zu den bisher üblichen Kreuzungen reziproke Kreuzung aufgrund der Vater- und nicht der Mutterpflanze erfolgreicher. Bei den Rückkreuzungen war, wie die GISH Untersuchungen zeigten, ebenfalls Weidelgraspollen wesentlich erfolgreicher. Vor allem bei der Rückkreuzung sollte also in Zukunft auf eine sehr gründliche Isolierung geachtet werden. Gerade die starken Schwankungen bei Betrachtung nur einer Pflanze ließen auf die starken Effekte der mechanischen Belastung und die Blüte schließen.

Bezüglich der Fertilität der F_1 Generation ($Lp \times Fp$) gegenüber der F_2 Generation (FEL \times FEL und FEL \times ?) und BC_1 *Fp* Pflanzen (FEL \times *Fp*) zeigte sich, dass die männliche Fertilität durch Rückkreuzung mit *Lp* oder Erstellung der F_2 Generation wieder restauriert werden konnte. Im Gegensatz dazu konnte bei der BC_1 *Fp* nur bei individuellen Pflanzen eine hinreichende männliche Fertilität festgestellt werden. Zu beachten war, dass bei den F_2 Pflanzen ein hohes Maß an Variabilität vorhanden war und somit nicht alle Pflanzen fertil waren. Bei einer Pflanze wurde gar keine Antherenbildung beobachtet. Beim Vergleich der F_1 Pflanzen mit den F_2 Pflanzen Nr. 163 (FEL \times ?) und Nr. 164 (FEL \times FEL)

und den BC₁ Pflanzen bezüglich Pollenfertilität konnten signifikante Unterschiede zwischen F₁ Pflanzungen und den F₂ Pflanzungen Nr. 163 und Nr. 164 festgestellt werden. Die BC₁ unterschied sich nicht signifikant von der F₁. Tendenziell wiesen die Pflanzen der Pflanzung Nr. 163 die beste Pollenfertilität auf. Dies könnte zusätzlich darauf hinweisen, dass es sich um Rückkreuzungen zu Deutschem Weidelgras handelte. Es gab jedoch keinen signifikanten Unterschied zwischen den definierten F₂ (FEL×FEL) aus Pflanzung Nr. 164, deren Elternpflanzen in Weizenisolationen abblühten und den Pflanzen aus Nr. 163 (Abbildung 1).

Betrachtete man den Samen-ertrag, der als Schätzer für die weibliche Fertilität der Pflanzen dienen sollte, so zeigte sich, dass dieser stark standortabhängig war. Eine Pflanzung war stark von Mutterkorn befallen, zwei Pflanzungen befanden sich an einem Standort, wo vermutlich nicht genug Pollen von Weidelgras oder Wiesenschwingel zur Verfügung stand. Die Pflanzungen am Standort Labor lieferten einen signifikant geringeren Samen-ertrag als die Pflanzungen in Pulling. Bei der Auswertung der anderen F₁ Pflanzungen stellte sich heraus, dass innerhalb des Kreuzungserfolgs 2009 die NK Orleans einen signifikant höheren Samen-ertrag lieferten. Innerhalb des Kreuzungserfolgs 2007 zeigte die Nachkommenschaft von Gladio im Vergleich zur Nachkommenschaft von Lipreso ebenfalls ein höheres Niveau. Bei den F₂ Pflanzungen konnten aufgrund hoher Variabilität keine signifikanten Unterschiede zwischen den Nachkommen-schaften gezeigt werden. Die F₂ Pflanzung Nr. 163 wies einen signifikant höheren Samen-ertrag auf als die F₁ Pflanzungen, die F₂ Pflanzung Nr. 164 und die Pflanzen aus Rückkreuzung zu Wiesenschwingel (Nr. 1871). Pflanzung Nr. 164 unterschied

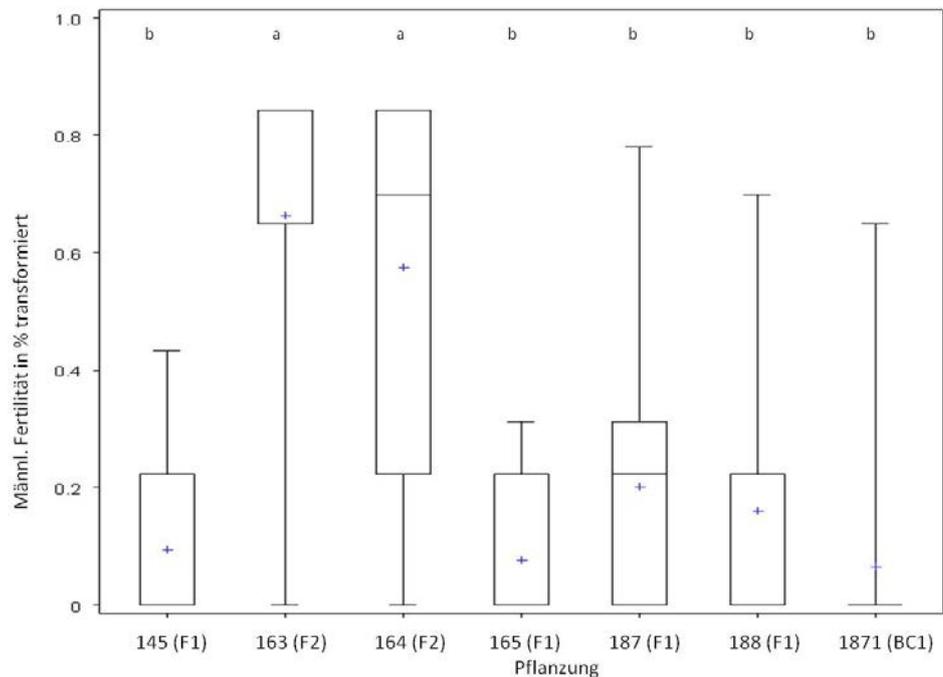


Abbildung 1: Männliche Fertilität der Pflanzen aufgeteilt nach Pflanzungen (Kreuzungsjahren). Bei 145, 165, 187 und 188 handelt es sich um F₁ Pflanzungen (Lp×Fp); 163 = FEL×?; 164 = FEL×FEL; 1871 = FEL×Fp (Gleiche Buchstaben weisen auf keine signifikanten Unterschiede hin)

Figure 1: Male fertility (%) of plants of different plantings (crossing years). 145, 165, 187 and 188 are F₁ plants (Lp×Fp); 163 = FEL×?; 164 = FEL×FEL; 1871 = FEL×Fp (same letters indicate non significant differences)

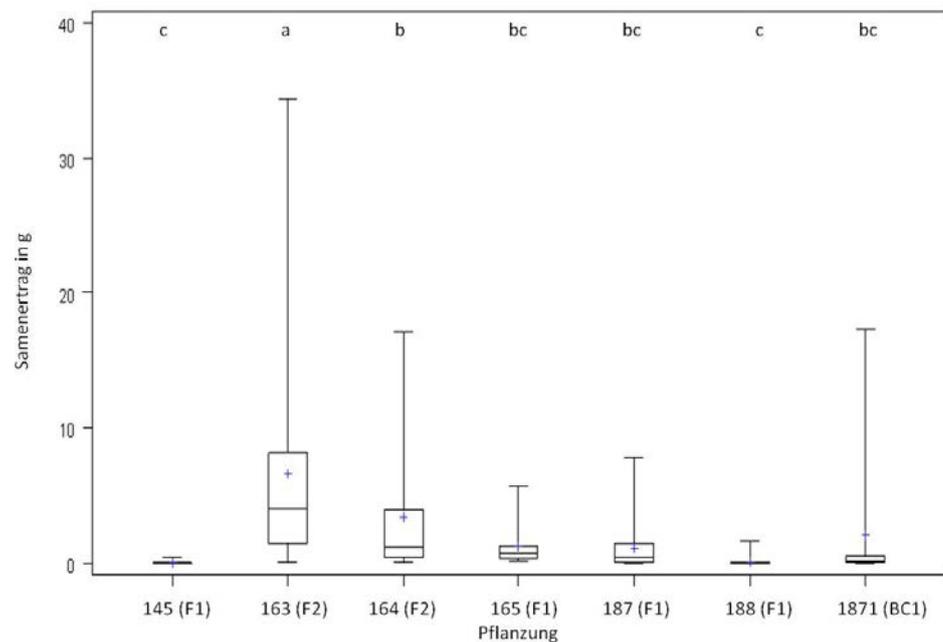


Abbildung 2: Samen-ertrag (g) pro Pflanze aufgeteilt nach Pflanzungen (Kreuzungsjahren). Bei 145, 165, 187 und 188 handelt es sich um F₁ Pflanzungen (Lp×Fp); 163 und 164 sind BC₁ Lp oder F₂; 1871 sind BC₁ Fp (Gleiche Buchstaben verweisen auf nicht signifikante Unterschiede)

Figure 2: Seed yield (g) per plant of different plantings (crossing years). 145, 165, 187 and 188 are F₁ plants (Lp×Fp); 163 and 164 are BC₁ Lp or F₂; 1871 are BC₁ Fp (same letters indicate non significant differences)

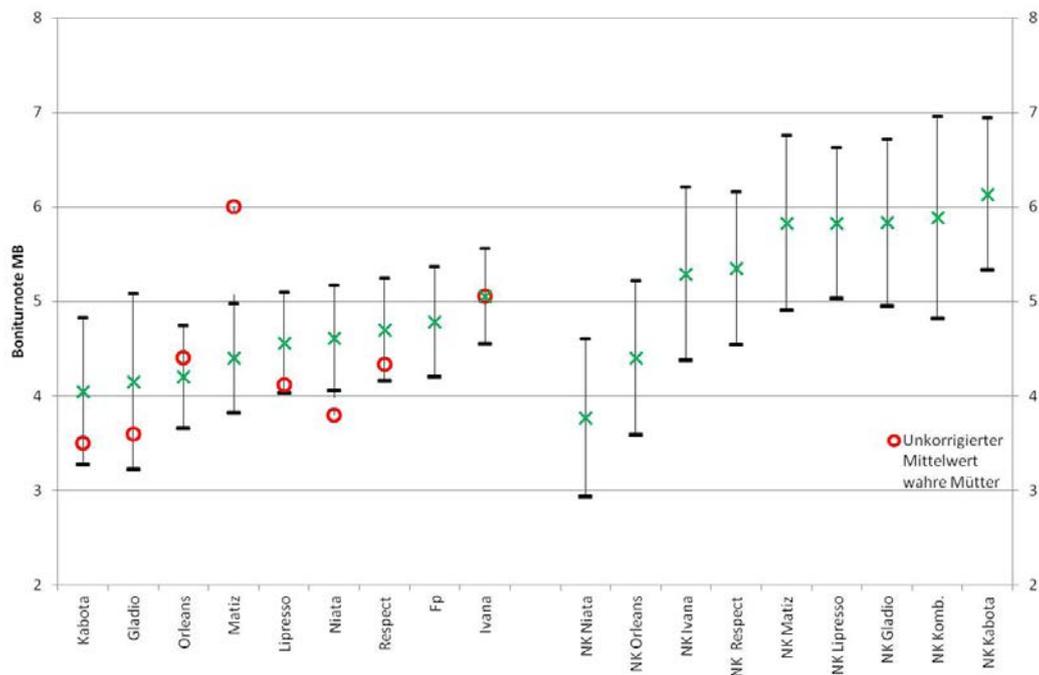


Abbildung 3: Mittelwerte aller Boniturnote Massenbildung. Vergleich der Nachkommenschaften innerhalb eines Kreuzungsjahres (Mittelwerte mit demselben Buchstaben sind nicht signifikant verschieden)

Figure 3: Mean score values for biomass growth. Comparison of progenies within the same crossing year (Mean values with the same letter are not significant different)

sich signifikant von den F_1 Pflanzungen, die am Standort Labor beerntet wurden (Nr. 145a, Nr. 188) (Abbildung 2).

Merkmalsbonituren

Mit der SAS Prozedur MIXED wurden die einzelnen Boniturnoten für Massenbildung über Nutzungsjahre und Standorte verrechnet. Die Unterschiede zwischen den Nachkommen sind in *Abbildung 3* dargestellt. Das gleiche Verfahren wurde zum Vergleich der Elternsorten verwendet. Signifikante Unterschiede waren hier nicht erkennbar. Im Ranking der Elternsorten wies die Sorte Ivana den höchsten Mittelwert bezüglich der Bonitur Massenbildung auf. Die Nachkommen der Sorten Respect, Ivana, Niata und Orleans wurden am schlechtesten bewertet. Beim Vergleich innerhalb von Pflanzungen, bei dem das Alter der Pflanzen als Einflussfaktor vernachlässigt werden konnte, bestätigte sich die Rangfolge des eingesetzten Elternmaterials im Kreuzungserfolg der Jahre 2007 und 2009. Nachkommen von Niata, die auch im Kreuzungsjahr 2010 entstanden, waren ebenfalls leistungsschwächer als die Vergleichsnachkommenschaften. In den Jahren 2009 und 2010 wurden identische Mutterpflanzen verwendet.

Aufgrund der großen Variabilität und einer zu kleinen Datenmenge konnten Signifikanzen weder beim Vergleich der Nachkommenschaften untereinander noch der Eltern nachgewiesen werden. Durch die aufsteigende Sortierung der Mittelwerte lassen sich aber zumindest Tendenzen erkennen.

Die Nachkommen der Sorten Ivana, Niata und Respect zeigten geringere Ausprägungen bei den beobachteten Merkmalen als die Elternsorte. Bei den Nachkommen der Sorten Kabota und Gladio wurden hingegen höhere Aus-

prägungen als bei den Eltern verzeichnet. Die restlichen Nachkommenschaften blieben gegenüber ihren Elternpopulationen konstant. Bei der Betrachtung der verschiedenen Kreuzungsjahre wurden aus dem Kreuzungsjahr 2007 die NK Kabota, aus dem Kreuzungsjahr 2008, die NK Gladio, aus dem Kreuzungsjahr 2009 die NK Lipresso und aus dem Kreuzungsjahr 2010 die NK Matiz mit den höchsten Bonituren für Massenbildung bewertet.

Beim Merkmal Dichtigkeit wurde bei der Auswertung vorgegangen wie beim Merkmal Massenbildung. Die Nachkommenschaften und die Elternsorten bzw. -populationen wurden jeweils untereinander verglichen (Abbildung 4). Bei beiden Auswertungen zeigten sich beim gewählten Signifikanzniveau keine Unterschiede. Die Wiesenschwingelpopulation wies einen höheren Mittelwert für Dichtigkeit auf als die Sorte Gladio. Da nur eine einzige Pflanze der Sorte Gladio auf der Beobachtungsfläche stand, ist zu berücksichtigen, dass der Vergleich sich nur auf diese beziehen kann. Der nicht korrigierte Mittelwert der wahren Mutterpflanzen war relativ konstant mit den korrigierten Mittelwerten der Sorten.

Bei den Nachkommenschaften der Sorten Gladio, Matiz, Lipresso und Kabota wurden höhere Ausprägungsstufen erfasst als bei den Weidelgras-Eltern. Der Nachkomme des Kombinationsklons konnte nicht mit seiner Mutterpflanze verglichen werden, da letztere ausgefallen war. Die Nachkommen von Orleans, Respect und Niata konnten beim Merkmal Dichtigkeit die Boniturnoten ihrer maternalen Elternpopulationen nicht erreichen. Bei der Kreuzung mit Wiesenschwingel wäre im Grunde eine Abnahme des Merkmals Dichtigkeit bei allen Nachkommen zu erwarten gewesen.

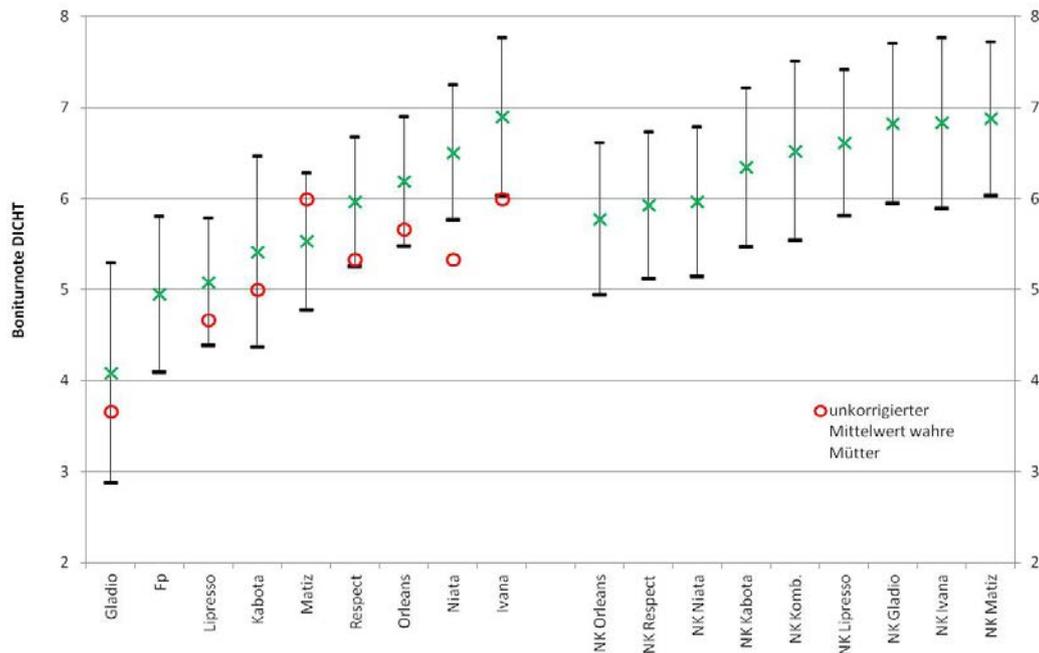


Abbildung 4: Vergleich der Elternsorten (rechts) und ihrer Nachkommenschaften (links) bezüglich des Merkmals Dichtigkeit
 Figure 4: Comparison of parental genotypes (right) and their progenies (left) in regard to density

Diese blieb jedoch bis auf die bereits erwähnten Populationen auf dem ursprünglichen Niveau erhalten.

In den meisten Fällen waren Mutterpflanzen und Nachkommenschaften in verschiedenen Jahren gepflanzt worden und hatten somit ein unterschiedliches Alter. Die Nachkommenschaften hatten ebenfalls nicht das gleiche Alter. Das Alter der Pflanzen hat jedoch in der Regel Auswirkung auf dessen Größe und dadurch auch auf andere Merkmale. Um die Sorten bzw. die Nachkommenschaften vergleichbar zu machen, wurden jeweils nur Muttersorten und Nachkommenschaften untereinander verglichen. Die Muttersorten bzw. -pflanzen hatten einen Altersunterschied von max. 2 Jahren. Die meisten Pflanzen der Elternsorten wurden in den Jahren 2009 und 2010 gepflanzt. Bonituren wurden nur im Jahr 2011 durchgeführt. Im Gegensatz dazu wurden die F_1 und F_2 Pflanzen in mehreren aufeinander folgenden Jahre in unterschiedlicher Häufigkeit bonitiert. In diesem Fall wurden im Rahmen der statistischen Verrechnung die Boniturnote je nach Alter der Pflanzen korrigiert.

Bei Hinzunahme der Elternpopulationen war dies aufgrund zu vieler fehlender Datensätze nicht möglich. Deshalb wurden Muttersorten und Nachkommenschaften getrennt verglichen und Veränderungen der Rangfolge interpretiert. Da es sich bei den Muttersorten aber um sehr weit streuende Populationen handelte, von denen nur einzelne Individuen als Elternpflanzen selektiert worden waren, musste die Qualität der Mutterpflanze innerhalb der Population ebenfalls berücksichtigt werden. Dennoch wurden zumindest Tendenzen erkennbar. Die gleichen Probleme traten bei der Bonitur Dichtigkeit auf und wurden analog gelöst. Bezüglich Massenbildung erhielt die Sorte Ivana den besten Mittelwert. Trotz der guten Qualität der tatsächlich verwendeten, also wahren Mutterpflanze, die im Mittel der Sorte lag, konnte diese Eigenschaft nicht an die Nachkommenschaft weiter

gegeben werden. Diese schnitt im Vergleich zu anderen Nachkommenschaften verhältnismäßig schlecht ab. Für die Kreuzungen mit der Sorte Matiz wurde eine Mutterpflanze mit hoher Ausprägungsstufe ausgewählt, was die Dominanz der Nachkommenschaften erklärte. Allerdings ist es möglich, dass hier das Modell nicht genug Daten für eine Auswertung zur Verfügung hatte, weil sowohl die Population der Muttersorte Matiz sowie deren Nachkommen, die im Kreuzungsjahr 2010 entstanden, vergleichsweise jung waren. Die Mutterpflanzen aus den Sorten Niata und Respect lagen im Mittel unter dem Durchschnitt der Sortenleistung. Diese Mittelwerte wurden aber nicht durch die SAS Prozedur MIXED korrigiert, enthielten also nur den einfachen Durchschnitt der vorhandenen Mutterpflanzen. Im Besonderen war diese Korrektur durch das SAS Programm bei der Sorte Kabota und Gladio erkennbar. Von diesen befanden sich außer den wahren Mutterpflanzen keine anderen Genotypen der Sorten auf der Beobachtungsfläche. Das Statistikprogramm korrigierte die Werte also nach oben hin. Die wahre Mutterpflanze Matiz wurde dagegen in der Bewertung nach unten gestuft. Dadurch wurde die Rangfolge, die sich bei den Nachkommen durch die SAS Prozedur ergab, relativ gut haltbar. Die Wiesenschwingel Population auf der Beobachtungsfläche wurde relativ gut bewertet. Dies lag vermutlich daran, dass in der direkten Nachbarschaft dieser Population keine Deutschen Weidelgräser zum Vergleich standen. Die Deutschen Weidelgras Sorten wurden direkt nebeneinander angebaut und waren somit einfacher zu vergleichen. Bei der Betrachtung der einzelnen Kreuzungsjahre fiel auf, dass sich die Bewertung der NK Lipresso von Kreuzungsjahr 2007 zu 2008 stark änderten. Es ist zu vermuten, dass für die Vererbung des Merkmals Massenbildung der Einfluss des einzelnen Genotyps generell höher zu bewerten ist, als der Einfluss der Sorte aus dem dieser stammt.

Um die Elternpopulationen mit den Nachkommenschaften zu vergleichen, wurde nur die Bonitur Ährenschieben des Jahres 2011 und von diesen nur die Werte vom Standort Labor herangezogen.

Insgesamt begann die Wiesenschwingelpopulation früher mit dem Rispschieben als die Weidelgräser. Ausnahme waren die Sorten Ivana, Lipresso und Gladio, deren Ährenschieben noch früher war. Der Kombinationsklon, der 2008 für Kreuzungen verwendet wurde, war vermutlich auch ein früherer Typ als Wiesenschwingel. Die Häufigkeitsverteilungen der NK Orleans und NK Lipresso lagen zwischen den Elternpopulationen und waren von beiden signifikant verschieden. Die NK Respect begannen das Ährenschieben später als die Sorte Respect. Die Nachkommen unterschieden sich signifikant von beiden Elternpopulationen. Die NK Niata lagen ebenfalls zwischen Wiesenschwingel und der Sorte Niata, unterschieden sich aber von letzterer nicht signifikant. Gleiches galt für die NK Kabota. Die NK Ivana unterschieden sich dagegen nicht von der Wiesenschwingelpopulation. Die Sorte Ivana begann signifikant früher mit dem Ährenschieben. Fp, die Gladio Mutterpflanze und NK Gladio waren signifikant verschieden. Die NK des Kombinationsklons begann signifikant früher mit dem Ährenschieben als die Wiesenschwingelpflanzen.

Bezüglich Rost wiesen die NK Respect einen signifikant höheren Rostbefall auf als alle anderen NK. Grund hierfür war die Verwendung einer rostanfälligen Mutterpflanze. Es konnte beobachtet werden, dass die Nachkommen sowohl höhere als auch niedrigere Noten erhielten als die Mutterpflanzen. Durch Rekombination und das Einkreuzen des Wiesenschwingels entstanden somit nicht nur resistentere Pflanzen sondern auch Genkombinationen, die einen Befall begünstigten. Ähnliche Beobachtungen konnten bei den NK Matiz, NK Ivana und NK Lipresso gemacht werden.

Zusammenfassung und Schlussfolgerung

Die in der Literatur vorhandenen Erfahrungswerte konnten in der vorliegenden praktischen Arbeit weitgehend bestätigt werden. Die Rückkreuzung mit Wiesenschwingel hatte weniger Erfolg als die Rückkreuzung mit Deutschem Weidelgras. Diesen Hinweis lieferten vor allem die GISH Analysen. Aufgrund des geringen Stichprobenumfangs der BC₁ Fp war die geringe Fertilität dieser Züchtungsgeneration zwar ein Hinweis, aber kein aussagekräftiges Ergebnis. Die BC₁ Fp Pflanzen werden somit in weiteren Züchtungsschritten mit Ausnahmen nur als Mutterpflanzen verwendet werden können. Ebenso verhielt es sich mit dem Verlust an Festuca Chromatin in den BC Generationen. Die cytologischen Vorgänge schienen in di- und polyploiden *Festulolium* Pflanzen weitgehend gleich zu sein. Insgesamt ist bei der Bewertung der Ergebnisse der z.T. geringe Stichprobenumfang als problematisch anzusehen.

Durch die nicht vorhandene Randomisation konnten Randeffekte sowie Effekte, die durch das leichte Gefälle am Standort Labor entstanden, nicht als Umwelteffekte in der statistischen Analyse identifiziert werden. Um eine Verrechnung möglich zu machen, mussten die Einflüsse der Rand- und Umwelteffekte an den Standorten vernachlässigt werden. Für die Interpretation der Ergebnisse durften

Umwelteffekte innerhalb eines Standorts aber nicht außer Acht gelassen werden. Vor allem wurden die Bonituren Ährenschieben, Massenbildung und Dichtigkeit davon beeinflusst. Durch das Gefälle verfügten manche Pflanzen über eine bessere Wasser- und Nährstoffversorgung, was vor allem in dem sehr trockenen Frühjahr einen starken Einfluss hatte. Da die Reihenfolge der Pflanzen am Standort Pulling dieselbe war, befanden sich auch dort fast immer die gleichen Pflanzen am Rand. Hinzu kam, dass letzterer Standort sehr weitläufig war und noch größere Effekte zwischen den Pflanzungen an diesem Standort als zwischen den Pflanzungen am Standort Labor zu erwarten gewesen wären.

Insgesamt wurden die NK Kabota und NK Gladio als sehr gute Nachkommenschaften bewertet. Leider handelte es sich dabei um sehr kleine Familien. NK Kabota umfasste vier Pflanzen, während die NK Gladio nur aus einer Pflanze bestand. Die Mutterpflanzen wurden nicht als Sorten angebaut, sondern es befanden sich nur die jeweils verwendeten Mutterpflanzen als Individuen unter Beobachtung. Teilweise waren auch die Mutterpflanzen nicht mehr existent, wie bei den ersten NK Ivana und den NK Komb., die in den meisten Auswertungen vernachlässigt wurden. Da die Elternpflanzen nur bei der direkten Auswahl für den Kreuzungsvorgang bewertet worden waren, befanden sich auch qualitativ und quantitativ nicht so hochwertige Pflanzen darunter.

Interessant wird im folgenden Jahr die Frage sein, ob die Festulolii, deren Mutterpflanze Wiesenschwingel war, leichter mit Wiesenschwingel rückkreuzbar sind und sich die Fertilität wiederherstellt. Inzwischen besteht die F₁ Population aus 617 Einzelpflanzen und die BC₁ Population aus 106 Einzelpflanzen. Aus kleinen Anfängen ist in diesem Bereich also Material und Erfahrung gewachsen, das vor einem nächsten Entwicklungsschritt gesichtet und bewertet wurde. Die bisherigen Ergebnisse wiesen auf eine hohe Variabilität hin. Es wurden F₁ Pflanzen für Kreuzungen im nächsten Jahr zusammengestellt, die im Freiland von einem ausgewählten Wiesenschwingel-Genotyp befruchtet werden sollen. Hierzu wurden diese F₁ Pflanzen von einem Mantel einer sehr stark verklonten Einzelpflanze umgeben.

Alle F₁ Pflanzen befanden sich seit Herbst 2011 in einer Klonbeobachtung und können in den nächsten Jahren unabhängig vom Kreuzungsjahr in einer Anlage inkl. Elternstandards verglichen werden.

Die Verifizierung der Festulolii wäre mit der GISH Methode am einfachsten. Eine zusätzliche Analyse mit codominanten Markern würde zusätzliche Informationen liefern. Die Interpretation der Marker wäre aufgrund der GISH Daten einfacher und haltbarer. Im Zuge dieser Methode würde zusätzlich der Ploidiegrad der Pflanzen geklärt und aneuploide Organismen könnten von weiteren Züchtungsschritten ausgeschlossen werden. Triploide Pflanzen, die als F₃ zu erwarten sind, könnten mit Colchizin aufgedoppelt und in einem getrennten Zuchtgang bearbeitet werden. Die Fragestellungen, die der vorliegenden Arbeit zu Grunde lagen, konnten nur teilweise beantwortet werden. Die Kombinationfähigkeit in Bezug auf die Kreuzung ist vermutlich nicht nur vom Genotyp abhängig, sondern auch stark von der Handhabung während des Kreuzungsvorgangs. Um die Frage zu klären, inwieweit die Kombinationsfähigkeit

von Gattungen, Sorten oder einzelnen Genotypen abhängt, müssten umfassendere Kreuzungsversuche angelegt werden, bei denen einzelne *Lp* Genotypen mit einzelnen *Fp* Genotypen wiederholt gekreuzt werden. Verluste während des Kreuzens dürften aufgrund ausreichender Anzahl an Wiederholungen nicht ins Gewicht fallen. Bei den F_2 und BC Generationen lässt sich jedoch die Aussage treffen, dass Deutsches Weidelgras im Allgemeinen für weitere Züchtungsschritte erfolgreicher wäre. Bei der reziproken F_1 Kreuzung ($Fp \times Lp$) muss erst die Qualität der Nachkommen im Feld bewertet werden.

Die bewerteten Merkmale wurden je nach Mutterpflanze unterschiedlich vererbt. Bei Krankheiten war dies stark von den Einzelpflanzen abhängig. Im Allgemeinen lagen die F_1 Populationen im Mittel der Elternpopulationen, wobei die Einzelpflanze nicht immer den stärksten Einfluss hatte. Allerdings waren die Umwelteffekte schwer abzuschätzen. Die Fertilität kann durch Kreuzung der Hybriden sowohl mit anderen Hybriden als auch mit Kreuzungen mit *Lp* restauriert werden. Die Anzahl $BC_1 Fp$ Pflanzen war noch nicht ausreichend hoch, um eindeutige Aussagen zu treffen. Bei allen Hybriden war eine große Spannweite zu beobachten. Es befanden sich auch Einzelpflanzen unter den $FEL \times FEL$ und $FEL \times ?$ Hybriden, die vollkommen steril waren. Die weibliche Fertilität war stark standortabhängig, wobei eine Korrelation von 0,45 zwischen männlicher und weiblicher Fertilität errechnet wurde. Bei den $BC_1 Fp$ Pflanzen, die bonitiert werden konnten, wurde nur bei einer Pflanze eine zufriedenstellende männliche Fertilität beobachtet.

Der bearbeitete Zuchtgang befindet sich noch in der Anfangsphase des Zuchtprogramms in der Erstellung von Ausgangspopulationen. Die Ergebnisse zeigen den noch weiten Weg von der beobachteten vergrößerten Variabilität bis zur angestrebten verbesserten Wiesenschwingel Sorte. Die bisherigen Beobachtungen zeigen jedoch das Potenzial, das schon in den vorliegenden Kreuzungen steckt.

Danksagung

Gedankt sei Leoni Forster (IPZ 4b) für technische Assistenz bei den Kreuzungen, Dr. Stefan Seefelder (IPZ 5c) und Dr. David Kopecký (Institute of Experimental Botany, Olomouc) für die Durchführung der genetischen Analysen, Herrn Eckl (ABV VB) für die Hilfe bei der statistischen Verrechnung, Frau Gellan (IPZ 1c) und Herrn Baumann (IPZ 1a) für die Hilfe beim Aufbau des Hydropony und der Evaluierung der Pollenfertilität, sowie Prof. Dr. Martin Elsässer und Dr. Ulrich Thumm (Universität Hohenheim) für wissenschaftliche Betreuung.

Literatur

- BSA, 2000: Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen. Bundessortenamt, Hannover. [Internet: http://www.bundessortenamt.de/internet30/fileadmin/Files/PDF/Richtlinie_LW2000.pdf; verifiziert 13 Feb 2012].
- BSA, 2009: Beschreibende Sortenliste, Futtergräser, Esparssette, Klee, Luzerne. Bundessortenamt, Hannover. [Internet: http://www.bundessortenamt.de/internet30/fileadmin/Files/PDF/bsl_futtergraeser_2009.pdf; verifiziert 13 Feb 2012].
- GYMER P, WHITTINGTON W, 1973: Hybrids between *Lolium perenne* L. and *Festuca pratensis* Huds. *New Phytol* 72: 411-424.
- HEINZ S, KUHN, G, 2008: 20 Jahre Bodendauerbeobachtung in Bayern, Teil 2: Vegetation auf Äckern und Grünland. LfL-Schriftenreihe 5/2008. Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising-Weihenstephan.
- UPOV, 2002: Allgemeine Einführung zur Prüfung auf Unterscheidbarkeit, Homogenität und Beständigkeit und Erarbeitung harmonisierter Beschreibungen von neuen Pflanzensorten. Internationaler Verband zum Schutz von Pflanzenzüchtungen, Genf. [Internet: http://www.upov.int/de/publications/tg-rom/tg001/tg_1_3.pdf; verifiziert 13 Feb 2012]
- VOS P, HOGERS R, BLEEKER M, REIJANS M, VAN DE LEE T, 1995: AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucl Acid Res* 23: 4407-4414.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält alle Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2011) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Root characteristics of durum wheat and wheat relatives

Alireza Nakhforoosh, Doris Schuhwerk, Gernot Bodner,
Stefan Kutschka and Heinrich Grausgruber^{1*}

Abstract

Access to a rich genetic diversity, and easy and feasible screening methods are main prerequisites for an efficient breeding program. Under drought condition, roots could play an outstanding role to improve yield by effective absorption of water from soil. Since roots are not easily accessible, root characteristics are hardly exploited in crop breeding so far. In the present study the diversity of root properties of 7 durum wheat genotypes and 5 relatives was determined in 3 soil depths, i.e. 10-20, 30-40 and 50-60 cm, of a field trial. As an easy and non-destructive field screening method in regard to root system size, electrical capacitance was assessed for its efficiency to predict 'true' root characteristics. The results revealed significant differences between genotypes and soil depths. A significant and positive correlation between root capacitance and/or root length and root surface indicates the capability of this method for the screening of genetic material under field conditions.

Keywords

Einkorn wheat, Khorasan wheat, root image analysis, *Triticum durum*, *T. timopheevi*

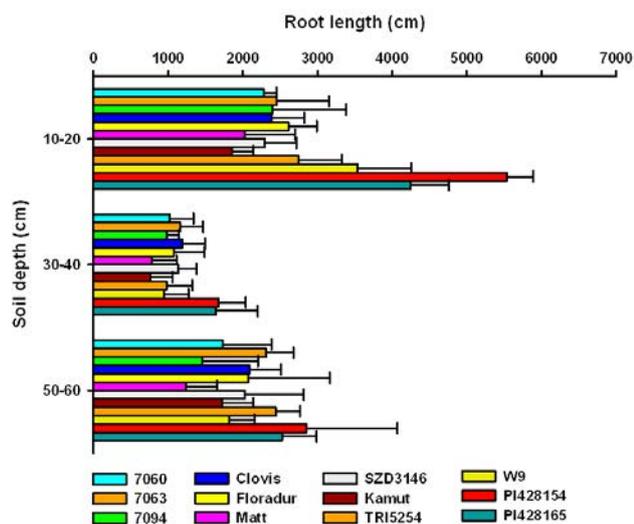


Figure 1: Root length of different wheat material in three soil depths (mean values + standard deviations)

Introduction

Improving abiotic stress resistance is a major challenge for plant breeding. Especially drought is among the most important environmental constraints to plant growth. LEVITT (1980) identified three main responses to water stress in natural plant communities: (i) drought escape, (ii) dehydration tolerance and (iii) dehydration avoidance. Dehydration avoidance may be achieved by reduced losses ('water savers') and improved supply ('water spenders'). Although the plant root system is essential to ensure an efficient water uptake (BLUM 2009), it is still hardly exploited in plant breeding (PALTA et al. 2011). A targeted integration of the root system into plant breeding requires knowledge on the existing diversity in root traits. The objective of the current study was to assess root system properties in different durum wheat genotypes and selected accessions of relatives. The main distinguishing features of root system diversity within this nursery are presented.

Material and methods

Plant material

Seven durum wheat (*Triticum durum*) genotypes, i.e. 7060 (CDSS02Y01022T-0TOPB-0Y-0M-21Y-0Y), 7063 (CDSS02Y01082T-0TOPB-0Y-0M-11Y-0Y), 7094 (CDSS02B00667S-0Y-0M-10Y-4M-04Y-0B), Clovis, Floradur, Matt and SZD3146, two Khorasan wheat (*T. turanicum*), i.e. QK-77 (Kamut[®]) and TRI5254, two einkorn wheat (*T. monococcum*), i.e. PI428154 and PI428165, and one Zanduri wheat (*T. timopheevi*), i.e. W9, were tested in a field experiment with 4 replications. The field trial was sown on 8 March 2011 in Raasdorf (16°35'E, 48°14'N) in the Pannonian plains growing region of Eastern Austria. Plot size was 1.75 m² (1.4×1.25 m).

Trait measurements

Electrical capacitance was measured by an Escort elc-133 lcr-meter (CHLOUPEK 1977) at the physiological stages stem elongation, inflorescence emergence and development of fruit. Thereby, an estimation of root system size was obtained. On 16 June (milk dough stage) the roots were sampled from 3 soil depths (10-20, 30-40 and 50-60 cm) by means of a single root auger from the center of each plot. Samples were stored at -20°C until final processing. After

¹ University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Department of Crop Sciences, Division of Plant Breeding, Konrad Lorenzstraße 24, A-3430 TULLN

* Ansprechpartner: Heinrich GRAUSGRUBER, heinrich.grausgruber@boku.ac.at

storage the samples were defrosted at room temperature. Then the roots were washed and sieved (pore size 0.63 mm). To prepare the roots for scanning they were coloured by an azur eosin methylene-blue solution (1:20 v/v). After staining the roots were scanned by a flat bed scanner and analyzed by winRhizo software (Regent Instruments Inc., Québec City). Measured root parameters included root length, root diameter, root surface and root volume. To measure root dry matter the roots were dried at 60°C and weighted after 24 h.

Results and discussion

This study revealed significant differences between genotypes and different soil depths for all investigated root characteristics. Root length varied from 4049.6 cm (durum cv. Matt) to 10065.3 cm (einkorn PI428154) with an average of 6004.3 cm. All genotypes showed their maximum and minimum root length in the upper and intermediate soil layer, respectively (*Figure 1*). The einkorn wheat accessions showed a significantly higher root length in all three soil depths compared to the other genotypes.

Concerning root surface area an average value of 774.0 cm² was estimated; with a minimum of 502.6 cm² for durum cv. Matt and a maximum of 1123.0 cm² for einkorn accession PI4281154. Root diameter varied between 0.368 mm (PI4281154) and 0.455 mm (Clovis). *Figure 2* shows a part of the observed root diameter diversity. In regard to root volume, minimum and maximum values were obtained for Matt (5.15 cm³) and PI4281154 (10.12 cm³), respectively. Root dry matter varied significantly between 440.4 mg (Matt) and 912.6 mg (Floradur) with an average of 623.3 mg.

As it is shown in *Figure 3* a significant correlation between electrical capacitance and root length was obtained ($P \leq 0.0001$). Moreover, similar correlations were observed between electrical capacitance and root surface and root diameter, respectively ($P \leq 0.0001$). Since electrical capacitance is an easy and non-destructive measurement it could be suggested as a feasible method for screening of genetic material for root system size under field conditions. In cereals the methodology was successfully deployed to study root system size of oats (CHLOUPEK 1972, 1977), the effect of semi-dwarf genes on root system size of barley (CHLOUPEK et al. 2006), to select barley for drought tolerance (CHLOUPEK et al. 2010), and recently to study the diversity in water use efficiency of wheat varieties (STREDA et al. 2012). Drawbacks of the method is the lack of knowledge concerning the electrical circuit of the system. Values are

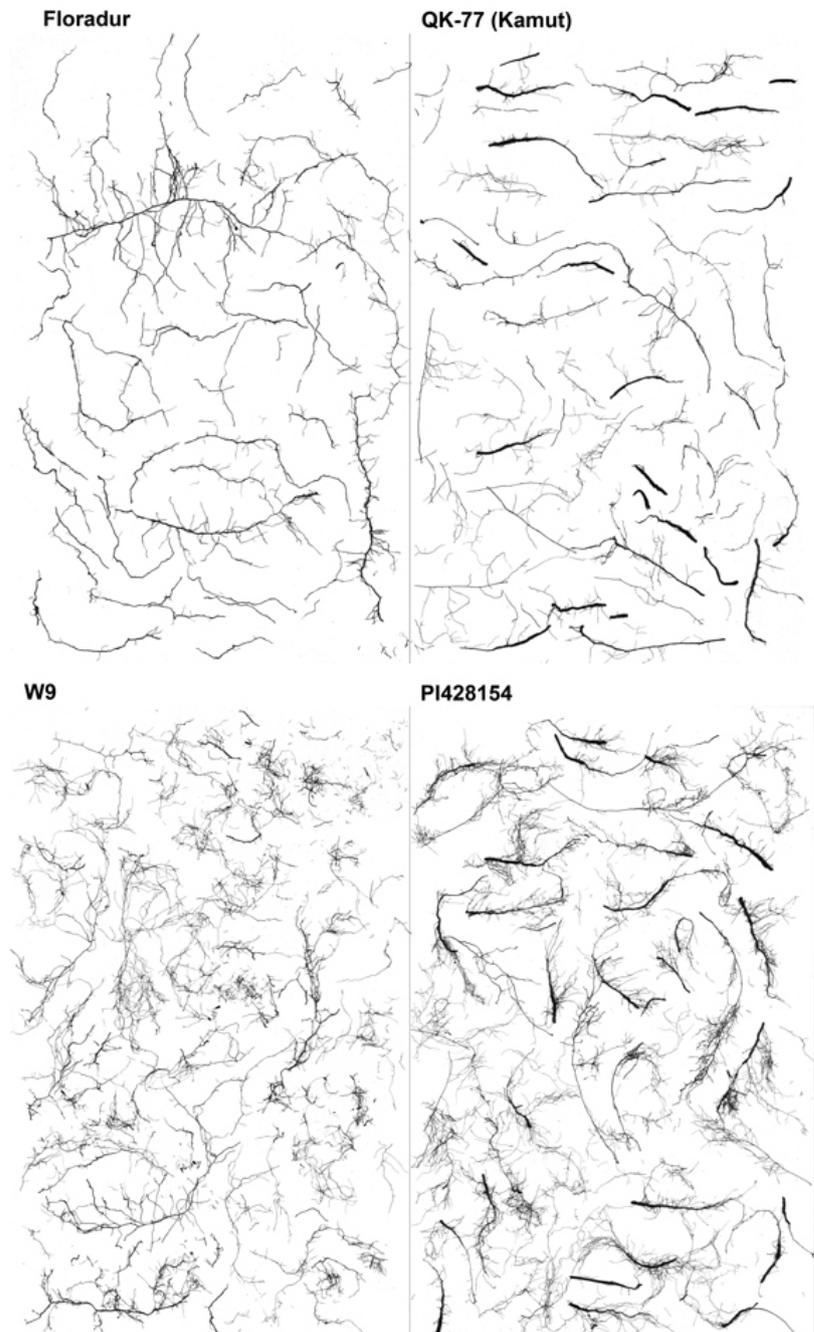


Figure 2: Scanned roots from 10-20 cm soil depth for Floradur (*T. durum*), Kamut (*T. turanicum*), W9 (*T. timopheevii*) and PI428154 (*T. monococcum*)

only comparable for plants of the same species grown in the same substrate, at the same soil moisture (a moist medium around the plant root system is necessary) and measured at the same time. The measured aerial parts must be dry (no precipitation immediately before or during measurements), dry leaves at the basal stems have to be removed, the electrode must be consistently placed (CHLOUPEK et al. 2006), and development stages have to be considered in the analysis. To summarize, this study confirmed a considerable variation concerning the investigated root properties and also the capability of electrical root capacitance measurements as

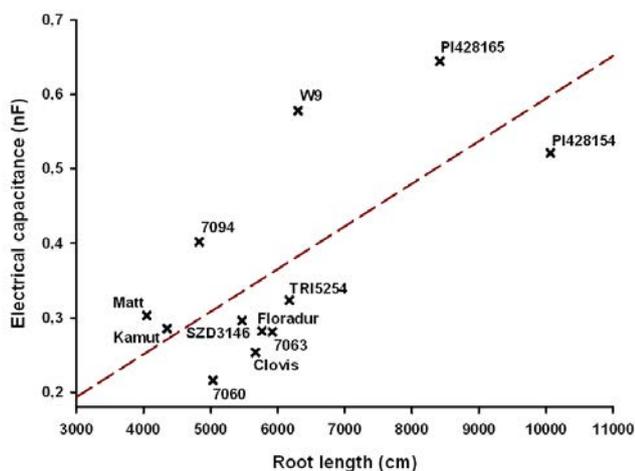


Figure 3: Relationship between root length and electrical capacitance (measured at milk dough stage on 17 June) for different wheat material

an easy and feasible method for the screening of genetic material under field conditions. Further experiments with non-destructive methods for studying root architecture are necessary to better understand the differences between the studied genotypes.

Acknowledgements

The genebank curators H.E. Bockelman (USDA-ARS, Aberdeen), A. Graner (IPK, Gatersleben), T. Payne (CIM-

MYT, Mexico) and J. Lafferty (SZD, Probstdorf) are kindly acknowledged for providing the original seeds of the tested genotypes.

References

- BLUMA, 2009: Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crop Res* 112: 119-123.
- CHLOUPEK O, 1972: The relationship between electric capacitance and some other parameters of plant roots. *Biol Plant* 14: 227-230.
- CHLOUPEK O, 1977: Evaluation of the size of a plant's root system using electrical capacitance. *Plant Soil* 48: 525-535.
- CHLOUPEK O, FORSTER B, THOMAS W, 2006: The effect of semi-dwarf genes on root system size in field-grown barley. *Theor Appl Genet* 112: 779-786.
- CHLOUPEK O, DOSTAL V, STREDA T, PSOTA V, DVORACKOVA O, 2010: Drought tolerance of barley varieties in relation to their root system size. *Plant Breed* 129: 630-636.
- LEVITT J, 1980: Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
- PALTA JA, CHEN W, MILROY SP, REBETZKE GJ, DRECCER MF, WATT M, 2011: Large root systems: are they useful in adapting wheat to dry environments? *Funct Plant Biol* 38: 347-354.
- STREDA T, DOSTAL V, HORAKOVA V, CHLOUPEK O, 2012: Effective use of water by wheat varieties with different root system sizes in rain-fed experiments in Central Europe. *Agric Water Manage* 104: 203-209.

Note: The online version of the proceedings includes all figures in colour. It can be downloaded either from the homepage of the meeting (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2011) or requested from the corresponding author.

Biomass production of white mustard (*Sinapis alba* L.) varieties in relation to the root system size

Martin Hajzler^{1*}, Jana Klimešová and Tomáš Středa

Abstract

Root system size (RSS) of eight white mustard varieties was evaluated in a field trial. The two-year experiment was conducted on two different agro-ecological sites in the Czech Republic: Troubsko and Horní Třešňovec. RSS was measured during the vegetation period by the electrical capacity method. At the end of vegetation the above ground biomass and root samples were evaluated by digital image analysis. There was no statistically significant relationship between RSS and amount of aboveground biomass. Relationship between RSS and content of NO_3^- and NH_4^+ ions in the soil after harvest was observed. RSS negatively correlated with the content of nitrate nitrogen in the soil, however, the correlation was statistically not significant. Evaluation across sites revealed a positive correlation between aboveground biomass and amount of residual NO_3^- ions in the soil ($r=0.54$). On the other hand a significant negative correlation ($r=-0.81$) of RSS and NH_4^+ ions content was observed in Troubsko.

Keywords

Biomass, cover crops, electric capacity, nitrogen, root system, *Sinapis alba*

Introduction

An influence of plant species on nitrogen (N) management is obvious. The plants of the family *Brassicaceae* (*Cruciferae*) belong to high consumers of N for biomass production. They receive more N than cereals or legumes (SMUKALSKI et al. 1991). Although the root density of *Brassicaceae* is lower than e.g. *Poaceae*, their root system grows faster and achieves greater depths (MEISINGER et al. 1991). This allows access to a greater volume of soil and reduces N leaching (THORUP-KRISTENSEN 2001). BODNER et al. (2011) found a higher root biomass production of white mustard (*Sinapis alba* L.) compared to lacy phacelia, rye and vetch. The ability of mustard to immobilize N was evaluated by FRANCIS et al. (1998). Similarly, HERRERA and LIEDGENS (2009) compared mustard with other cover crops. White mustard in comparison with sunflower and lacy phacelia showed the smallest N loss by washing but was not absorbing most N from the soil. The reason may be its rapid initial growth. Flowering stage starts early, therefore, total N accumulation is lower and its retention time is shorter.

CONSTANTINE et al. (2010) studied the effect of long-term cultivation of mustard on N leaching and mineralization rate of residual N. The constant efficiency of mustard to prevent leaching of soil N was recorded in long-term (17 years) observations. However, only in the early years of the experiment, the influence on increasing the mineralization of N in the soil was registered.

Aims of this work were the following: (i) analysis of different N intake from the soil, aboveground biomass production and the root system size of eight white mustard varieties, (ii) to analyze whether plants with larger root system uptake more soil N, (iii) to determine the correlation between amount of aboveground biomass and the amount of residual N in the soil.

Material and methods

The experiment was conducted at two Czech locations in 2010 and 2011. The first location Horní Třešňovec is located in the foothills of Orlické hory mountains and represents less fertile soils with higher annual rainfall and lower average air temperature (temperate warm agroclimatological area; KURPELOVÁ et al. 1975). Soils are stagnosols with topsoil of 30 cm. The second location Troubsko is located in the fertile area near Brno in the warm and mainly dry agroclimatological area (KURPELOVÁ et al. 1975). Soils are fluvisols.

Eight varieties of white mustard, i.e. Medicus, Seco, Semper, Severka, Sito, Sirte, Veronika and Zlata were evaluated. Plants were planted in small plots experiment with four replications. At the beginning and end of the experiment soil samples were collected. The content of NO_3^- and NH_4^+ nitrogen was determined.

Root system size (RSS) was measured by two methods: electrical capacity (CHLOUPEK 1977) and digital image analysis. The first method is nondestructive and is performed directly in an environment where the plant grows (in situ). The measuring device operates with two electrodes, the cathode (forceps or needle) is attached to the stem of plants about 1 cm above soil surface. Anode (needle) is inserted into the soil at a distance of 10 cm from the studied plants. The electric current passes through the circuit at a frequency of 1 kHz. The measured values are given nF (nanofarad). The instrument measures the parallel capacity (C_p) in a similar way as capacitors. In this case, the capacitor plates is a root system and the substrate in which it grows. Measurements were performed by Voltcraft LCR 4080

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

* Ansprechpartner: Martin HAJZLER, martin.hajzler@mendelu.cz

sensor in three growth stages (stem elongation, flowering and ripening). Ten plants of each variety in each replication were measured.

The second method is based on digital analysis of washed and scanned roots (STŘEDA et al. 2009). Sampling of soil with the root system was carried out at the end of the experiment in the growth phase of ripening. The sampling probe had a diameter of 63 mm and sampling was conducted to a soil depth of 60 cm. The obtained soil block was divided into 6 parts with a length of 10 cm, frozen at -20°C and stored for further processing. After thawing the block was floated through a system of sieves with mesh diameters of 1.6 and 0.6 mm. Captured roots were collected and subsequently scanned. The scanned image was processed in the program WinRhizo, Basic version (Régent Instruments Inc., Québec). This program evaluates among others the total length and surface roots. Scanned roots were then dried and weighed. The data was used for calculation of RLD (Root Length Density), RSD (Root Surface Density), which describe the length respectively area of roots per unit volume of soil. Furthermore, SRL (Specific Root Length), which evaluates the length of roots per gram root mass was evaluated. Aboveground biomass (dry weight) was determined at seed maturity (BBCH 70). The data were statistically processed with Statistica, Vers. 9 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK). Mean comparisons within analysis of variance was carried out by Fisher's LSD test ($\alpha=0.05$).

Results and discussion

RSS of single varieties on both localities in both years is displayed in *Figure 1*. Underdeveloped root system was observed in Třešňovec in 2010 which was most probably caused by extremely wet and rainy weather during the vegetation period. Thereby, the soil was wet for a considerable time and roots did not have enough air to evolve well. Varieties Medicus and Seco showed a smaller root system at both localities and years, whereas Semper showed a big root system in each environment which could be explained by a strong genetic effect. This fact is also shown in *Figure 2*, where the influence of locations and year on electrical capacity is illustrated. Mean comparisons from the analyses of variances are demonstrated in *Table 1*.

Further an influence of RSS on soil NO_3^- nitrogen consumption was observed. In Třešňovec in both years and in Troubsko in 2011 the varieties with higher RSS had a lower NO_3^- nitrogen balance in soil than varieties with larger root system. In Troubsko in 2010 a conclusive negative correlation between RSS and content of NH_4^+ ions in the soil ($r=-0.81^*$) was observed. Influence of RSS on biomass production was not statistically conclusive. Aboveground biomass showed an irresolute positive correlation to NO_3^- content in the soil at the end of vegetation period ($r=0.54$).

Using digital analysis SRL was determined, which is an important root system character and expresses the length of roots per unit of root system weight. Varieties with smaller

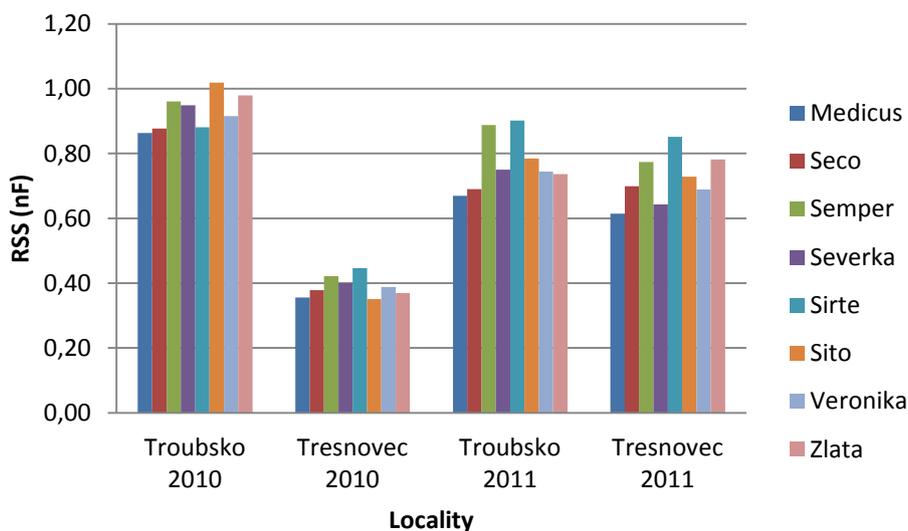


Figure 1: Genotypic variability of Root system size (RSS) in dependence of location and year (mean values from 3 measurements)

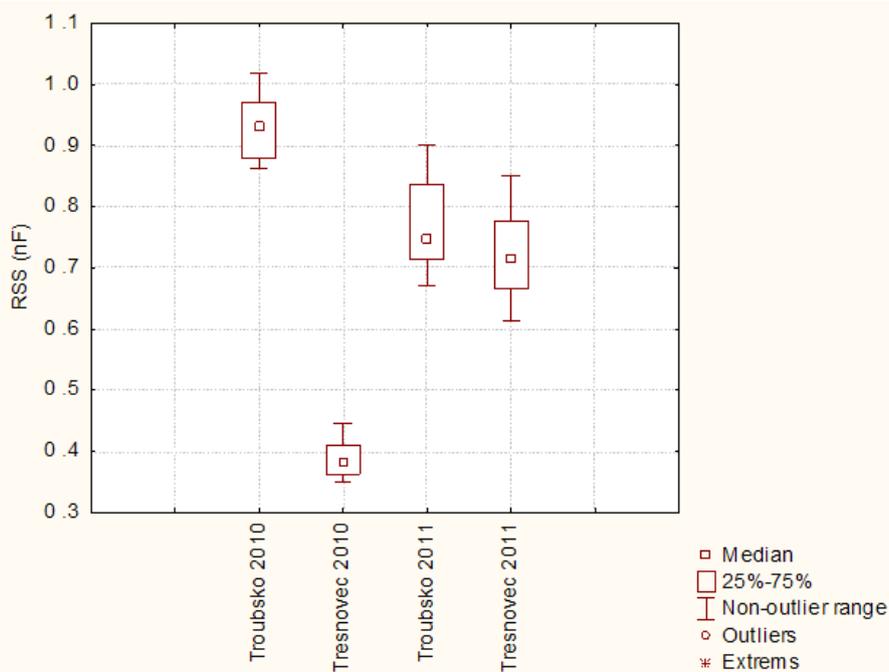


Figure 2: Variability of root system size (RSS) according to environments (means over all tested varieties)

Table 1: Comparison of genotypic means of root system size (RSS) at different development stages and environments (Means with the same letters are not significantly different)

Variety	Troubsko 2010		Tresnovec 2010		Troubsko 2011			Tresnovec 2011		
	STE ¹	FLO	STE	FLO	STE	FLO	RIP	STE	FLO	RIP
Medicus	1.24 ^{ab}	0.49 ^a	0.46 ^{bc}	0.25 ^{ab}	0.93 ^b	0.69 ^{ab}	0.40 ^a	0.78 ^{ac}	0.55 ^b	0.52 ^a
Seco	1.22 ^a	0.54 ^{ab}	0.46 ^b	0.30 ^{cd}	1.06 ^{ab}	0.61 ^a	0.41 ^a	0.82 ^{ac}	0.68 ^a	0.59 ^a
Semper	1.38 ^{bc}	0.54 ^{ab}	0.52 ^{ac}	0.33 ^{de}	1.10 ^a	0.87 ^c	0.70 ^d	0.88 ^{abc}	0.70 ^a	0.74 ^b
Severka	1.34 ^{ab}	0.56 ^{ab}	0.53 ^a	0.27 ^{bc}	1.14 ^a	0.72 ^{abc}	0.38 ^a	0.76 ^c	0.57 ^b	0.60 ^a
Sirte	1.21 ^a	0.56 ^{ab}	0.53 ^a	0.36 ^e	1.34 ^c	0.84 ^{cd}	0.53 ^c	0.96 ^b	0.84 ^c	0.75 ^b
Sito	1.48 ^c	0.55 ^{ab}	0.48 ^{abc}	0.22 ^a	1.15 ^a	0.71 ^{ab}	0.50 ^{bc}	0.95 ^b	0.69 ^a	0.54 ^a
Veronika	1.33 ^{ab}	0.50 ^a	0.49 ^{abc}	0.29 ^{cd}	1.18 ^a	0.63 ^{ab}	0.42 ^{ab}	0.89 ^{abc}	0.56 ^b	0.61 ^{ac}
Zlata	1.35 ^{abc}	0.61 ^{ab}	0.49 ^{abc}	0.25 ^{ab}	1.03 ^{ab}	0.73 ^{bc}	0.45 ^{abc}	0.89 ^{ab}	0.74 ^a	0.71 ^{bc}

¹ STE, stem elongation; FLO, flowering; RIP, ripening

SRL had higher RSS (higher electrical capacity) and lower NO₃⁻ nitrogen balance in the soil at the end of vegetation. Rather surprising was that varieties with a shorter and heavier root system had higher electrical capacity. Medicus had the highest electrical capacity on both locations in 2010 but showed second lowest RSS in Třešňovec in 2010, whereas it showed the highest SRL (six times higher than three varieties with the lowest SRL and two times higher than Veronika, the variety with the second highest SRL) (Figure 3). In Troubsko the genotypic difference in SRL was not so significant. Medicus showed four times higher values of SRL compared to the two varieties with the lowest SRL.

In Figure 4 a generally higher specific root length can be seen for Třešňovec which could be explained by a lower soil fertility, especially NO₃⁻ nitrogen, which was washed out as a result of long-term soil waterlogging. Waterlogging itself can also have significant influence on root system development, when plants are stressed by lack of air. The above mentioned specific characteristics of Třešňovec in 2010 (lower topsoil profile, little water-permeable subsoil layer, less fertile soil, long-term waterlogging) could explain the statistically significant difference between RLD 0-20 cm and RLD 0-40 cm ($r=-0.77^*$). It is probably the result of different strategies of the varieties in regard to root system development.

Acknowledgements

This research was supported by the Czech Ministry of Education, Youth and Sports, grant MEB061013.

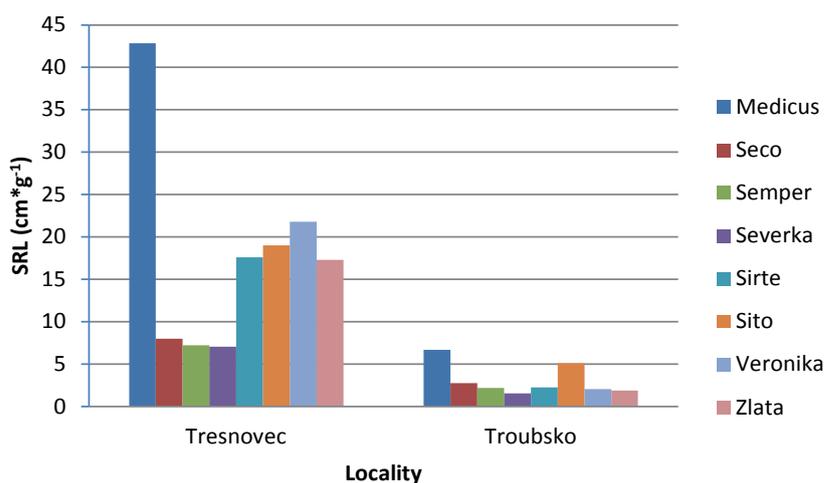


Figure 2: Variability of root system size (RSS) according to environments (means over all tested varieties)

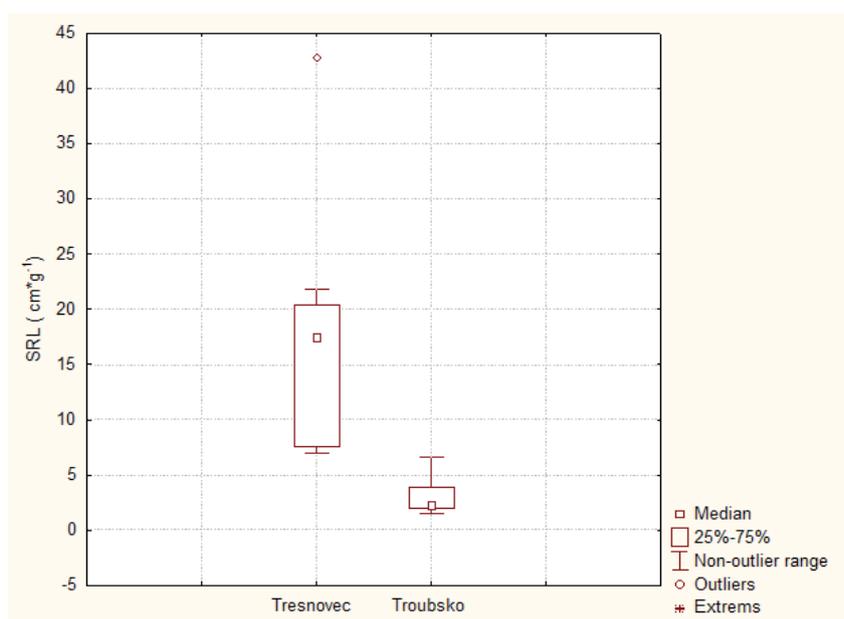


Figure 4: Variability in specific root length (SRL) at the two test locations (means over all varieties in 2010)

References

- BODNER G, KASTELLIZ A, LIEBHARD P, LOISKANDL W, HIMMELBAUER M, KAUL HP, 2011: Wurzeigenschaften von Zwischenfrüchten und ihre agroökologische Funktion. 1. Tagung Öst Ges Wurzelforschung, 13-14 Sep, LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning, 67-74.
- CHLOUPEK O, 1977: Evaluation of size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant Soil* 48: 525-532.
- CONSTANTINE J, BEAUDOIN N, LAURENT F, COHAN JP, DUYME F, MARY B, 2011: Cumulative effects of catch crops on nitrogen uptake, leaching and net mineralization. *Plant Soil* 341: 137-154.
- FRANCIS GS, BARTLEY KM, TABLEY FJ, 1998: The effect of winter cover crop management on nitrate leaching losses and crop growth. *J Agric Sci* 131: 299-308.
- HERRERA JM, LIEDGENS M, 2009: Leaching and utilization of nitrogen during a spring wheat catch crop succession. *J Env Qual* 38: 1410-1419.
- KURPELOVÁ M, COUFAL L, ČULÍK J, 1975: Agroklimatické podmínky ČSSR, 1. vyd. Příroda, Bratislava.
- MEISINGER JJ, HARGROVE WL, MIKKELSEN RL, WILLIAMS JR, BENSON VW, 1991: Effects of cover crops on groundwater quality. In: Hargrove WL (Ed.), *Cover crops for clean water*, Proc Int Conf, 9-11 Apr, Jackson, TN, pp. 57-68. Soil Water Cons Soc, Ankeny, IA.
- SMUKALSKI M, ROGASIK J, OBENAUF S, 1991: Cultivation of cover crops to control nitrate leaching. In: Hargrove WL (Ed.), *Cover crops for clean water*, Proc Int Conf, 9-11 Apr, Jackson, pp. 82-84. Soil Water Cons Soc, Ankeny, IA.
- STŘEDA T, DOSTÁL V, CHLOUPEK O, BODNER G, 2009: Šlechtění a výběr odrůd obilnin s větší tolerancí k suchu. *Úroda* 57(5): 10-12.
- THORUP-KRISTENSEN A, 2001: Are differences in root growth of nitrogen catch crops important for their ability to reduce soil nitrate-N content, and how can this be measured? *Plant Soil* 230: 185-195.

Note: The online version of the proceedings includes all figures in colour. It can be downloaded either from the homepage of the meeting (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/>) - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2011) or requested from the corresponding author.

Testing of pre-harvest sprouting of wheat and triticale at the breeding station Uhretice, Selgen Corp., Czech Republic

Irena Bizova^{1*}, Martin Hromadko² and Karel Svec¹

Abstract

Germination of grains at the spike before harvest is called pre-harvest sprouting (PHS). Periods of rainfall and high humidity after grain maturity and before harvest can contribute to PHS, which can be seen of as a premature germination. Germination can begin when a grain absorbs moisture. Visible indications of PHS include grain swelling, germ discoloration, seed coat splitting and root and shoot emergence. Sprouting is influenced by the weather during ripening and pre-harvest time. Among varieties significant differences in regard to resistance to pre-harvest sprouting can be observed. Resistance to sprouting at the breeding station Uhretice is selected only on visual evaluation. Other methods can be used to evaluate grain dormancy, the influence of awns and wax layer, the effect of temperature and dry conditions before harvest or falling number test can be used to measure alpha-amylase activity.

Keywords

Falling number, pre-harvest sprouting, quality, *Triticosecale*, *Triticum aestivum*, weather

Introduction

Pre-harvest sprouting (PHS) results in reduced end-use quality. PHS occurs when wet or rainy conditions delay the harvest. Cool and moist conditions after grain maturity lead to increased risks of PHS (JIANG and XIAO 2005, THOMASON et al. 2009). Physiological mature grains start to germinate in the field. The more wet and dry cycles the grain experiences the more likely dormancy is broken and the grain germinates at the spike. Water must penetrate the seed coat and move into the seed before it can germinate. Results of pre-harvest sprouting are the decrease of test weight and the degradation of starch and protein. Reduction of kernel quality together with yield losses cause financial losses to farmers and food processors (CHAPMAN 2011). Timely harvest is one of the most important things if quality wheat is to be produced (FOSTER 2011). Testing for resistance to sprouting is a standard selection method in wheat and triticale breeding.

Material and methods

Five spikes from each test line are harvested at physiological grain maturity from field trial plots. The spikes are tied into

small bouquets with wire and labels marked with numbers. The spikes are soaked in water for 3 h to absorb water. Afterwards the spikes are placed on a steel crosshatch in a way that no spike touches another spike (*Figure 1*).

The spikes are continuously irrigated with water (*Figure 2*). The time period between irrigation depends on weather conditions but it is regulated in a way that constant wet conditions are provided. After 7 and 14 d the degree of sprouting is scored on a 1 to 9 scale (9=extensive sprouting on the spike, 1=no sprouting, *Figure 3*). Spikes with fungal infections are discarded.



Figure 1: Spikes on the steel crosshatch



Figure 2: Irrigation of spikes

¹ Selgen a.s., Plant Breeding Station Uhretice, CZ-538 32 UHRETICE 11

² Selton s.r.o., Research Centrum, Stupice 24, CZ-250 84 SIBRINA

* Ansprechpartner: Irena BIZOVA, uhretice@selgen.cz

Süßlupinen als alternative Eiweißfrüchte für Biobetriebe? Sweet lupines as alternative protein-feed for ecological farms?

Waltraud Hein^{1*} und Hermann Waschl

Abstract

Sweet lupines are corn legumes with a high protein content which would be a good alternative legume to soybeans in organic farming. Lupines have a high value in spite of crop rotation as well as peas and faba beans but they have more protein. The only problem is their shortage of competition opposite weeds so ecological farmers need clean fields. The Department for Ecological Farming of the ACRE Raumberg-Gumpenstein carried out field trials with lupines in the years 2009-2011 at the experimental station Lambach and on farms in Upper-Austria. The aims were to find out the best varieties for each region and the best methods of production. Grain yields were about 2000 kg·ha⁻¹ which is in the range of reported data. Protein content was between 35 and 40% which comes near to soybeans. Nevertheless, there are many efforts to do to convince farmers of the advantages of sweet lupines.

Keywords: crude protein content, grain legumes, *Lupinus*, organic farming, sweet lupines, varieties

Einleitung

Süßlupinen zählen ebenso wie Erbsen und Ackerbohnen zu den großkörnigen Leguminosen. Diese stellen auf Grund ihrer Eigenschaft, Stickstoff sammeln zu können, wertvolle Fruchtfolgeglieder dar, sowohl im konventionellen als ganz besonders im biologischen Landbau. Solche Kulturen liefern im Biolandbau wichtiges Protein für die Tierernährung, was im Hinblick auf die ab 2012 geltende Verordnung, im Biolandbau bei allen Tierarten ausschließlich biologisch erzeugtes Eiweißfutter einsetzen zu dürfen, einen besonderen Stellenwert erhält.

So wertvoll diese großkörnigen Leguminosen auch sind, so stark ist in den letzten Jahren die Anbaufläche für diese Kulturen zurückgegangen, weil große Ertragsschwankungen, Krankheiten und Schädlinge die Attraktivität dieser Kulturarten stark reduziert haben. Allerdings wird angesichts der neuen Bestimmungen die Notwendigkeit, großkörnige Leguminosen im Biolandbau verstärkt anzubauen, offensichtlich. Gerade in diesem Zusammenhang sind auch Bemühungen zu verstehen, alternative Körnerleguminosen, wie Süßlupinen, in die Fruchtfolgen aufzunehmen, um die tierische Eiweißversorgung sicher stellen zu können.

Innerhalb der Gattung *Lupinus* gibt es rund 300 Arten, von denen bisher nur 4 für die intensive Nutzung zur Korngewinnung kultiviert wurden, das sind: *Lupinus albus* (Weiße Lupine), *Lupinus mutabilis* (Anden-Lupine), *Lupinus luteus* (Gelbe Lupine) und *Lupinus angustifolius* (Blaue Lupine), wobei die letzten beiden erst seit rund 60 Jahren genutzt werden (SCHUSTER 1998).

Vorzüge der Lupinen liegen in ihrem hohen Eiweißgehalt, der 35 bis 40% beträgt und somit fast an jenen von Sojabohnen heran kommt. Dem gegenüber steht allerdings der Nachteil der Konkurrenzschwäche der Süßlupine im Hinblick auf Unkräuter, aus der ein später Bestandesschluss und in Folge oft eine starke Verunkrautung resultieren.

Um den Landwirten in Fragen der Produktionstechnik und Sortenwahl mit Ratschlägen zur Seite stehen zu können, führte die Abteilung Ackerbau des Institutes für Biologische Landwirtschaft des LFZ Raumberg-Gumpenstein verschiedene Feldversuche mit Parzellen- und Streifenversuchen auf unterschiedlichen Standorten in Oberösterreich durch.

Material und Methoden

In den Jahren 2009 bis 2011 wurden an verschiedenen Standorten im oberösterreichischen Raum Feldversuche mit unterschiedlichen Sorten der Blauen Süßlupine durchgeführt. Die meisten dieser Versuche waren Streifenversuche ohne Wiederholungen, die Versuche an der Außenstelle der Abteilung in Lambach Stadl-Paura Parzellenversuche. *Tabelle 1* bringt eine Übersicht über Standorte und Sorten.

Die Sorten sind nicht alle in der Österreichischen Sortenliste angeführt. In allen drei Versuchsjahren waren nur die Sorten Borlu, Boruta und Prima gelistet (AGES 2009, 2010, 2011), wobei allerdings kein Saatgut der Sorte Prima erhältlich war. So wurde der überwiegende Teil des Saatgutes aus Deutschland besorgt.

Damit Daten aus verschiedenen Ackerbaugebieten Oberösterreichs vorliegen, wurden die Versuche stark gestreut, wobei das Jahr 2010 mit 5 verschiedenen Standorten, die auch geerntet werden konnten, auffällt. Die beiden im Jahr 2009 in Lambach angelegten Lupinenversuche fielen einem schweren Hagelschlag Anfang Juli zum Opfer.

Bei den Streifenversuchen wurde die Ertragsfeststellung unterschiedlich vorgenommen. Bei den Flächen, welche näher zur Außenstelle Lambach gelegen sind, erfolgte die Ernte mit dem Parzellenmähdrescher. Dabei wurde vorher

¹ HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut für Biologische Landwirtschaft, Raumberg 38, A-8952 Irdning

* Ansprechpartner: Waltraud HEIN, waltraud.hein@raumberg-gumpenstein.at

Tabelle 1: Übersicht über die Lupinenversuche des LFZ Raumberg Gumpenstein (2009-2011)

Table 1: Sites and varieties of the sweet lupine field trials of the LFZ Raumberg-Gumpenstein (2009-2011)

	Versuchsjahr		
	2009	2010	2011
Orte	Lambach Waldneukirchen Neumarkt i. Mkr. Gaspoltshofen	Lambach Waldneukirchen Dorf/Pram Neumarkt i. Mkr. Neukirchen/Enknach	Lambach
Sorten	Boregine Borlu Haagena Probtor	Boregine Borlu Haags Blaue Probtor Sanabor Vitabor Boruta	Boregine Borlu Haags Blaue Probtor Sanabor Vitabor Boruta Haagena Sonet

die sogenannte Restfläche mit einem großen Mährescher geerntet und die ausgemessenen Parzellen für die Ernte mit dem Parzellenmährescher stehen gelassen. Bei jenen Flächen, die mehr als 100 km von Lambach entfernt lagen, wurde die Ernte der Sortenstreifen mit einem großen Mährescher vorgenommen, dabei wurde jede Sorte in einen Big-Bag gefüllt, welcher anschließend gewogen wurde.

Nach der Ernte erfolgte die Probenahme für die chemische Analyse im Labor des LFZ Raumberg-Gumpenstein. Jede Probe wurde auf ihren Gehalt an Wasser und Rohprotein nach den Standardmethoden untersucht. Alle Kornerträge wurden in der Folge auf 86% Trockenmassegehalt berechnet. Die übrigen Erhebungen am Feld umfassten Zählungen zur

Pflanzenzahl·ha⁻¹, ebenso eine Zählung der Anzahl Hülsen pro Pflanze, sowie eine Messung der Wuchshöhe. Dazu wurden auf 2 mal 5 Laufmetern pro Sorte diese Zählungen durchgeführt. Dabei wurde großer Wert darauf gelegt, dass es sich bei den Zählstrecken um durchschnittliche Feldbestände handelte; große Fehlstellen wurden genauso wenig in diese Zählungen mitaufgenommen wie Feldstücke, die besonders stark verunkrautet waren.

Ergebnisse

Abbildung 1 bringt einen Überblick über die Kornerträge der einzelnen Lupinensorten, jahrweise gemittelt über alle Standorte. Daraus geht hervor, dass die in den Versuchen gewonnenen Kornerträge im Bereich der in der Literatur beschriebenen Kornerträge unter mitteleuropäischen Standortbedingungen liegen (PAFFRATH 2004, BÖHM und AULRICH 2009). Natürlich gibt es starke Schwankungen im Kornertrag von Betrieb zu Betrieb, wobei der Grad der Verunkrautung einen wesentlichen Einfluss auf die Ertragshöhe ausübt. Trotzdem wurde sorgfältig darauf geachtet, dass die Ernteparzellen nicht gerade ein besonders stark verunkrautetes Feldstück betrafen.

Was die Rohproteingehalte betrifft, liegen diese zwischen 35 und 40%, womit sie nur mehr geringfügig unter den Rohproteingehalten von Sojabohnen bleiben (RÖMER 1994). Ein wichtiges Kriterium für die Verwertung der Lupine sowohl zu Futterzwecken als auch für die menschliche Ernährung stellt der Alkaloidgehalt von Lupinen dar. Obwohl bei den heute zur Verfügung stehenden Lupinensorten der Alkaloidgehalt durch Züchtungsfortschritte ohnehin schon sehr gering ist, wurden Obergrenzen von 0,05% für die Tierernährung und 0,02% für die Lebensmittelverwertung festgelegt (BÖHLER und DIERAUER 2011).

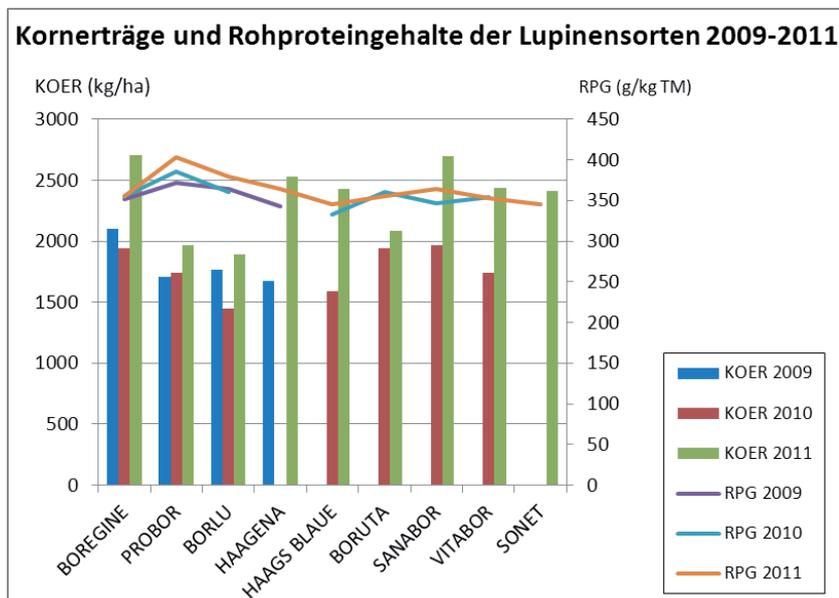


Abbildung 1: Kornerträge (KOER) und Rohproteingehalte (RPG) der Lupinensorten (2009-2011)

Figure 1: Grain yield (KOER) and crude protein content (RPG) of sweet lupine varieties (2009-2011)

Lupine als Pflanze mit einer Pfahlwurzel und einem verzweigten Seitenwurzelsystem trägt zur Strukturverbesserung des Bodens bei und kann dadurch auch schwer lösliches Phosphat im Boden mobilisieren, was grundsätzlich auf die Nachfrucht sehr positiv wirkt. Das große Problem im Biolandbau bleibt bei Lupine die Verunkrautung, besonders, weil die Süßlupine durch ihr morphologisches Erscheinungsbild sehr konkurrenzschwach im Vergleich zu manchen Unkrautpflanzen ist. Eine sorgfältige Auswahl der Flächen sowie eine rechtzeitige Durchführung von Pflegemaßnahmen tragen wesentlich zur Erzielung eines wirtschaftlich vertretbaren Erfolgs bei.

Danksagung

Ein herzlicher Dank ergeht an alle Landwirte, bei denen Streifenversuche durchgeführt werden konnten, für das zur Verfügung Stellen der Versuchsflächen und den zusätzlichen Arbeitsaufwand.

Literatur

- AGES (Hrsg.) 2009, 2010, 2011: Österreichische Sortenliste 2009, 2010, 2011. Schriftenreihe 03/2009, 03/2010, 03/2011.
- BÖHLER D, DIERAUER H, 2011: Merkblatt Biolupinen. FiBL, Frick.
- BÖHM H, AULRICH K, 2009: Anbau der Blauen Lupine (*Lupinus angustifolius*) mit unterschiedlichen Reihenabständen und Bewertung der Futterqualität mittels NIRS. In: Mayer J, Alföldi T, Leiber F et al. (Hrsg.), Beiträge zur 10. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 11-13 Feb, Zürich, 127-130. Verlag Dr. Köster, Berlin.
- PAFFRATH A, 2004: Anbau von Lupinen im Ökologischen Landbau. Beraterrundbrief der Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen [Internet: www.oekolandbau.nrw.de/pdf/pflanzenbau/Futterbau/lupinen.pdf; besucht am 16 Jan 2011].
- RÖMER P, 1994: Lupinen - Verwertung und Anbau. 2. Aufl. Gesellschaft zur Förderung der Lupinen e.V., Rastatt.
- SCHUSTER WH, 1998: Gattung *Lupinus* L. In: Schuster WH, Alkämper J, Marquard R, Stählin A (Hrsg.), Leguminosen zur Kornnutzung : Kornleguminosen der Welt. GEB-Giessener Elektronische Bibliothek, Universität Giessen [Internet: <http://geb.uni-giessen.de/geb/volltexte/2000/320/>].

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält die Abbildung in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchertagung - Saatzüchertagung 2011) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Erfassung der genetischen Variabilität agronomischer Eigenschaften von Blauer Lupine

Assessment of genetic variability of agronomic parameters of narrow-leafed lupin

Anne-Kathrin Klamroth^{1*}, Regine Dieterich¹, Bernhard Saal¹, Inge Broer² und Jana Huckauf²

Abstract

Genotype by environment (G×E) interaction in narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius* L.) has been investigated for yield and protein content in a two-year field trial. Eight varieties with restricted branching were grown at four sites in Mecklenburg-Western Pomerania and Bavaria. The trials demonstrate, that site has a greater influence on yield (significant at $P < 0.01$) than site×year, site×year×genotype and genotype. Due to the limited set of breeding material the G×E component was of minor importance ($P = 0.08$). For grain yield, the strong interaction between site and year was caused by the extreme site of Bornhof. The highest yield was found in 2011 at Groß Lüsewitz. Yield was more affected by site than by year. The crude protein content was also significantly influenced by site and year. Between the year 2010 and 2011 less differences were found among the sites. Yield was negatively correlated with crude protein content. The differences in crude protein yield reflect the differences in yield indicating the stronger impact of grain yield than of protein content.

Keywords

Crude protein content, crude protein yield, genotype by environment interaction, *Lupinus angustifolius*, yield

Einleitung

Die Körnerleguminosen stellen seit den Anfängen der Landwirtschaft wertvolle Kulturpflanzen dar. Neben den positiven Aspekten für die landwirtschaftliche Nutzung im ökologischen und konventionellen Anbau können sie auch für die Tier- und Humanernährung eingesetzt werden. Wegen ihres hohen Gehaltes an lysinreichem Eiweiß im Samen nehmen sie eine besondere Stellung in der Fütterung und Ernährung der Menschen ein (OSBORNE 1924). Die züchterische Eliminierung der Bitterstoffe macht die Blaue Lupine unter den Körnerleguminosen zu etwas Besonderem. Diese als Süßlupine bezeichneten Varietäten dürfen aus ernährungsphysiologischer Sicht einen Alkaloidgehalt von 0,02% nicht überschreiten (RÖMER 2007). Trotz vieler positiver Gründe für den Anbau von Leguminosen,

insbesondere der Blauen Lupine, steckt der Anbau in einer Krise (EICKMEYER 2009). Gründe dafür liegen in den relativ niedrigen Preisen für Mineralstoffe, der einseitigen Nutzung von Kulturarten mit hohen Deckungsbeiträgen in der Fruchtfolge sowie in der weitgehenden Deckung des Proteinbedarfes in der Tierfütterung durch Sojaextraktionschrot. Nicht nur die Rahmenbedingungen für den Anbau von Körnerleguminosen sind schwierig, sondern auch die kulturarteneigenen Probleme sorgen für eine geringe Akzeptanz im landwirtschaftlichen Anbau. Geringe und instabile Erträge sowie schwankende Qualitäten stellen Negativfaktoren dar (EICKMEYER 2009). Die Herausforderung für die Züchtung liegt darin hohe, stabile und sichere Erträge und Qualitäten zu erzeugen um eine höhere Akzeptanz bei den Landwirten zu erreichen. Für den landwirtschaftlichen Anbau und für die Verarbeitung ist es daher notwendig die Schwankungsbreite der Ertragsparameter zu kennen. Zu diesem Zweck wurden die Ertragsparameter von Sortenmaterial und Sorten in verschiedenen Umwelten in einem zweijährigen Feldversuch getestet.

Material und Methoden

In einem zweijährigen Feldversuch wurden 8 determinierte (unverzweigte) Sorten und Stämme geprüft. Die Prüfung erfolgte an vier Standorten in den Bundesländern Mecklenburg-Vorpommern und Bayern. Die klimatischen und edaphischen Merkmale der Standorte sind in *Tabelle 1* aufgeführt. Der Versuch wurde als randomisierte Blockanlage mit vier Wiederholungen und einer Parzellengröße von 3,5 m² (Steinach, Dratow), 3,95 m² (Groß Lüsewitz) und 10,5 m² (Bornhof) angelegt.

Die Pflanzen wurden nach der Reife (BBCH 89) geerntet und getrocknet. Anschließend erfolgte die Bestimmung und Auswertung folgender Ertragsparameter: Ertrag (dt·ha⁻¹), Rohproteingehalt (%), Rohproteinertrag (dt·ha⁻¹) und Tausendkornmasse (g). Die Ermittlung des Rohproteingehaltes erfolgte mittels NIR (Nah-Infra-Rot-Spektroskopie) mit einem Corona 45VISNIR (Carl Zeiss Jena GmbH, Jena). Aus dem Rohproteingehalt und dem Ertrag wurde der Rohproteinertrag (dt·ha⁻¹) errechnet. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programm IBM® SPSS® Statistics 19 (IBM Corp., Somers, NY).

¹ Saatwucht Steinach GmbH & Co KG, Klockower Straße 11, D-17219 BOCKSEE

² Universität Rostock, Agrar- und Umweltwissenschaftliche Fakultät, Agrarbiotechnologie und Begleitforschung zur Bio- und Gentechnologie, Justus-von-Liebig-Weg 8, D-18059 ROSTOCK

* Ansprechpartner: Anne-Kathrin KLAMROTH, anne-kathrin.klamroth@saatwucht.de

Tabelle 1: Beschreibung der Versuchsstandorte
Table 1: Characteristics of experimental sites

State Site	Mecklenburg-Western Pommern			Bavaria
	Bornhof	Groß Dartow	Groß Lüsewitz	Steinach
Land value number	20	30-35	47	72
Soil type ¹	S	sL	IS	L, sL
pH value	5.3	6	5.8	6
Long-term rainfall (mm)	558	558	688	803
Mean annual temperature (°C)	8.2	8.2	8.3	7.8

¹ IS, loamy sand; sL, sandy clay; S, sand; L, clay

Ergebnisse

In den beiden Versuchsjahren traten über alle vier Standorte erhebliche Ertragsschwankungen auf. Im Jahr 2010 konnten Erträge im Mittel von 25 dt·ha⁻¹ und im Jahr 2011 von 29 dt·ha⁻¹ erreicht werden. Die höchsten Erträge waren im Jahr 2011 in Groß Lüsewitz zu finden. Auf den Standorten mit leichteren Böden wie Bornhof und Dratow sind im Jahresmittel deutlich geringere Erträge zu verzeichnen. Auf den besseren Standorten Steinach und Groß Lüsewitz liegt der Ertrag in beiden Versuchsjahren deutlich höher. Die Mehrerträge für das Jahr 2011 sind durch die höheren Niederschläge zu erklären. Die in Mecklenburg-Vorpommern und Bayern gelegenen Standorte zeichnen sich durch einen niedrigen pH-Wert (zwischen 5,3 und 6) aus und sind für den Anbau der Blauen Lupine besser geeignet als Standorte mit einem pH-Wert über 6 (SCHMIECHEN et al. 2002). Die Erträge der Genotypen werden demnach vom Standort stärker beeinflusst als vom Jahr. Zwischen Ort und Jahr existiert eine signifikante Wechselwirkung. Diese Wechselwirkungen werden besonders am Extremstandort Bornhof deutlich beeinflusst, welcher sich durch geringe Erträge auszeichnet. Auch der Genotyp hat einen geringeren Einfluss als der des Jahres. Im Vergleich zu den eingetragenen Sorten Boruta und Haags Blaue erreichen die besten Stämme einen deutlichen Mehrertrag, während die schlechteren Stämme ähnlich hohe Mindererträge aufweisen.

Im Weiteren wurden die Rohproteingehalte mittels Nah-Infrarot-Spektroskopie untersucht. Der Rohproteingehalt ist nicht von der Bodenbeschaffenheit abhängig, sondern von dem Abreifeverhalten sowie der Temperatur. Er schwankt zwischen den Versuchsjahren über alle Orte. Zwischen den Jahren gab es geringe Standortunterschiede. Eine Verbesserung des Rohproteingehalts oder des Ertrags gegenüber den Ausgangssorten war nicht zu beobachten. Bei der statistischen Überprüfung wurden signifikante Standort- und Jahresunterschiede festgestellt.

Der Rohproteingehalt ist negativ mit dem Kornertrag korreliert und besitzt daher kaum Einfluss auf den Rohproteinertrag. Dadurch spiegeln die mittleren Rohproteinerträge die Kornerträge wieder. Unterschiede zwischen den Kornerträgen und Rohproteinerträgen konnten nicht gefunden werden. Die geringen Rohproteinerträge der Standorte Bornhof und Dratow im Vergleich zu den Standorten Steinach und Groß Lüsewitz sind der geringen Wasserversorgung und Bodengüte geschuldet.

Diskussion

Alle geprüften determinierten Sorten und Stämme weisen einen höheren Standorteinfluss als Sorteneinfluss auf die

Ertragsparameter wie Ertrag, Rohproteingehalt und Rohproteinertrag auf. Der Standorteinfluss auf die jeweiligen Sorten und Stämme variiert, was vorherige Untersuchungen von JANSEN und KUHLMANN (2007) bestätigt. Der Rohproteingehalt wird durch die Temperatur und das Abreifeverhalten beeinflusst, was zu einer geringeren Umweltabhängigkeit im Vergleich zum Ertrag führt. Da es eine negative Korrelation von Ertrag und Rohproteingehalt gibt, geht der höhere Rohproteingehalt am Standort Bornhof im Vergleich zu den anderen Standorten mit einer deutlich geringeren Tausendkornmasse einher. Die wenigen und kleinen Körner bekommen durch die Source-Sink-Umlagerung mehr Stickstoff aus den Blättern, was zu einem höheren Rohproteingehalt führt. Die Ertragsunterschiede an den verschiedenen Standorten werden durch die verschiedenen Bodenverhältnissen und dem pH-Wert hervorgerufen. Es sind signifikante Unterschiede bei den Ertragsparametern über die Orte zu finden. Durch das enge Sortenmaterial sind große Unterschiede in der Genotyp-Umwelt-Interaktion kaum vorhanden.

Zusammenfassung

Auf allen vier Standorten in Mecklenburg-Vorpommern und Bayern wurden in vierfacher Wiederholung acht determinierte Sorten und Stämme von Blauer Lupine hinsichtlich Ertrag, Rohproteingehalt und -ertrag geprüft. An den verschiedenen Standorten wurden Unterschiede im Ertragspotenzial und dem Rohproteingehalt festgestellt. Der Einfluss des Standortes auf die Ertragsparameter ist im Vergleich zum Sorteneinfluss so hoch, dass letzterer vernachlässigbar ist. Dieses ist dem engen Sortenmaterial geschuldet. Die größte Bedeutung für die Standortunterschiede haben die Bodenverhältnissen und Niederschlagsmengen. Durch die negative Korrelation zwischen Ertrag und Rohproteingehalt findet man am Extremstandort Bornhof einen hohen Rohproteingehalt der mit einer geringen Tausendkornmasse korreliert.

Danksagung

Die Arbeiten des Jahres 2011 wurden durch das Forschungsvorhaben 03WKBV01A (Innovative regionale Wachstumskerne) vom Bundesministerium für Bildung und Forschung finanziell unterstützt.

Literatur

- EICKMEYER F, 2009: Alte und neue Herausforderungen in der Züchtung von Leguminosen, *Journal für Kulturpflanzen* 61: 352-358.
- JANSEN G, KUHLMANN JK, 2007: Proteinuntersuchungen in Einzelsamen zur züchterischen Erhöhung des Eiweißgehaltes. In: Zikeli S, Claupein W, Dabbert S, Kaufmann B, Müller T, Valle Zarate A (Eds.), *Zwischen Tradition und Globalisierung*, Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung ökologischer Landbau, 20-23 Mar, Universität Hohenheim, pp. 263-266. Verlag Dr. Köster, Berlin.
- OSBORNE TB, 1924: *The vegetable proteins*. Monographs in biochemistry. Longmans, Breen & Co London.
- RÖMER P, 2007: *Lupinen - Verwertung und Anbau*, 5. Aufl. Gesellschaft zur Förderung der Lupine e.V., Bocksee. [Internet: http://www.lupinenverein.de/Informationen/5_Auflage-1.pdf; verifiziert 2 Feb 2012]
- SCHMIECHEN U, SCHACHLER B, SAUERMAN W, 2011: Anbau- ratgeber Blaue Stüßlupine, UFOP-Praxisinformation, Union zur Förderung von Oel- und Proteinpflanzen e.V. (UFOP), Berlin. [Internet: http://www.ufop.de/downloads/PI_Blaue_Suesslupine_240611.pdf; verifiziert 2 Feb 2012].

Einfluss von Keimfähigkeit und Triebkraft auf den Feldaufgang und Ertrag bei Sojabohnen

Influence of germination and seed vigour on field emergence and yield of soybean

Benno Voit¹*, Georg Salzeder, Alois Aigner und Berta Killermann

Abstract

For crop species with a higher demand on temperature e.g. soybean, maize and sorghum the germination test is not sufficient for sowing. The germination test is done under optimal conditions, however, in the fields there are not always optimal conditions but e.g. low temperatures or wet soil. Therefore, a further test is urgently needed with tightened conditions to determine seed vigour. This test is the so-called "Cold Test". As at present for soybeans no cold test method exists, the maize method is used. By means of field trials using different seed qualities (high, medium and low germination values) it will be tested if the results of the cold tests are more related to field emergence than the germination values.

Keywords

Cold test, field emergence, germination, *Glycine max*, seed vigour, soybean

Einleitung

Die Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) ist eine Kurztagspflanze mit hohen Wärmeansprüchen und gedeiht daher am besten in warmen Körnermaisbauanlagen. Ähnlich wie beim Mais wurden bei der Sojabohne züchterische Fortschritte hinsichtlich einer früheren Abreife erzielt. Damit ist ein Vermehrungsanbau in günstigen Lagen Bayerns möglich. Die Vermehrung von Soja ist in Bayern Neuland und bedarf wissenschaftlicher Begleitung.

Methodik und Ergebnisse

Die Keimfähigkeit im Labor wird unter optimalen Bedingungen im sterilen Quarzsand bei 25°C festgestellt (ISTA 2011). Im Praxisanbau auf dem Feld liegen nur selten Optimalbedingungen vor. Kalte oder nasskalte Witterung nach der Saat und während der Keimung stellen hohe Anforderungen an das Saatgut. Deshalb stellt sich die Frage, ob für die Berechnung der Aussaatstärke die Keimfähigkeit die richtige Bezugsgröße ist, oder ob nicht der Triebkraft- bzw. Kalttestwert herangezogen werden soll (ISTA 1995). In den internationalen Vorschriften der ISTA zur Prüfung von Saatgut gibt es derzeit keine Untersuchungsmethode

für die Triebkraftprüfung von Sojabohnen. Daher wird die Triebkraftmethode von Mais übernommen (VOIT et al. 2010). Dazu werden die Proben in Ackererde eine Woche bei 10°C in den Klimaschrank gestellt. Anschließend eine Woche bei 25°C in die Klimakammer gebracht. Alternativ soll dazu eine Triebkraftprüfung bei 10°C konstanter Temperatur mit getestet werden. Während der kühlen Phase haben Pilze und Mikroorganismen die Möglichkeit, insbesondere aus dem Boden, die Keimung zu beeinträchtigen. Die Folge sind meist anomale Keimlinge oder tote Samen. Nach bisherigen Beobachtungen scheint die Sojabohne nicht besonders pilzanfällig während der Keimung zu sein. Anhand der Ergebnisse des Feldaufganges soll entschieden werden, welche Methode den Wert liefert, der dem Feldaufgang am nächsten ist. Nach der Ermittlung des Feldaufganges werden die Parzellen weiterhin beobachtet. Jede Parzelle wird gedroschen und der Ertrag ermittelt. Anhand der Ertragsdaten kann entschieden werden, wie niedrig der Triebkraftwert sein darf um noch einen akzeptablen Feldaufgang und Ertrag erwarten zu können.

Anhand der Ertragsergebnisse von unterschiedlichen Saatgutqualitäten (hohe, mittlere und niedrige Keimfähigkeit) lassen sich Rückschlüsse ziehen über den Einfluss von Triebkraft und Feldaufgang.

Für den Sojabohnenanbau ist die Abreife ein wesentlich begrenzender Faktor. Wir erwarten deshalb mit Spannung die Qualität des geernteten Sojabohnensaatgutes. Insbesondere im Hinblick auf die Kriterien Keimfähigkeit und Triebkraft. Aus diesem Grund werden zwei unterschiedliche Sorten angebaut. Die frühreife Sorte Merlin und die etwas spätere Sorte Cordoba. Die Versuchsstandorte wurden nach der Abreife ausgewählt. Rotthalmünster als klimatisch sehr günstiger Standort hat die besten Voraussetzungen für eine gute Abreife. Dagegen gilt der zweite Standort in Oberhummel bei Freising als klimatisch durchschnittlich.

Zusammenfassung

Bei Fruchtarten mit höheren Temperaturansprüchen wie Sojabohnen, Mais und Hirse ist die Keimfähigkeit nicht geeignet zur Berechnung der Aussaatstärke für den Feldanbau. Die Keimfähigkeit wird im Labor unter Optimalbedingungen festgestellt. Diese Bedingungen liegen im Feld nur

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, AG Saatgutuntersuchung/Saatgutforschung, Lange Point 6, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Benno Voit, benno.voit@lfl.bayern.de

selten vor, deshalb ist eine Keimprüfung unter verschärften Bedingungen, die sogenannte Triebkraft- oder Kalttestprüfung notwendig. Da es für Sojabohnen derzeit keine Untersuchungsmethode gibt, wird dasselbe Verfahren wie bei Mais angewandt. Anhand von Feldversuchen wird überprüft, ob die Triebkraftwerte näher an den Feldaufgangsergebnissen liegen als die Keimfähigkeitswerte.

Literatur

- ISTA, 1995: Handbook of vigour test methods, 3rd Ed. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.
- ISTA, 2011: International rules for seed testing, Ed. 2011. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland.
- VOIT B, SCHNELLHAMMER R, EDER J, KILLERMANN B, 2010: Einfluss von Keimfähigkeit und Triebkraft auf den Feldaufgang und Ertrag bei Mais. VDLUFA Schriftenreihe 66: 560-565.

Entwicklung einer *in vitro* Vermehrungsmethode für Gelben Enzian (*Gentiana lutea* L.)

Development of an efficient micropropagation method for *Gentiana lutea* L.

Maria Granilshchikova und Elisabeth Kopper^{1*}

Abstract

Gentiana lutea, also known as bitter root is part of the *Gentianaceae* plant family. It is a native of the Alpine and sub-Alpine areas of central and southern Europe. Gentian root has a long history of use as herbal bitter in the treatment of digestive disorders and is an ingredient of many proprietary medicines. The bitter principles of gentian root are the secoiridoid glycosides amarogentin and gentiopicroin. Because of a long generative cycle (six to eight years until flowering), a low germination rate of seeds, as well as a very high variability of generatively produced plants, micropropagation may provide a useful alternative for producing plants with high glycoside content. Therefore the growth of axillary shoots was initiated on freshly grown shoots of greenhouse grown plants of *G. lutea* after sterilisation with ethanol (70%) for 5 m, Danchlorix (20%) for 5 m and HgCl₂ (0.2%) for 5 m. For shoot initiation and multiplication a modified MS-medium containing glucose (1.5%) and sucrose (1.5%), and a vitamine mixture from thiamine (0.3 mg·L⁻¹), L-tyrosine (100 mg·L⁻¹), adenine hemisulphate dehydrate (80 mg·L⁻¹) and ascorbic acid (200 mg·L⁻¹), gelrite (3 g·L⁻¹), pH 5.8 was used. Optimum benzyladenine and naphthalene acetic acid concentrations for shoot development were established and found to be 6 mg·L⁻¹ for BAP und 0.5 mg·L⁻¹ for NAA. Roots were induced by using WPM-medium with glucose (0.75%) and sucrose (0.75%), and IBA (0.2 g·L⁻¹).

Keywords

Gentian root, micropropagation, plant tissue culture, rooting, yellow gentian

Einleitung

Der Gelbe Enzian (*Gentiana lutea* L.) ist eine ausdauernde bis zu 120 Zentimeter hohe Staude mit einem runden, unverzweigten Stängel, die in den alpinen Gebieten Zentral- und Südeuropas heimisch ist (LANGE 1998). Als Droge Enzianwurzel, *Gentianae radix*, dienen die getrockneten, zerkleinerten, unterirdischen Pflanzenteile. Sie sind reich an Zuckern (z.B. Gentiobiose) und Bitterstoffen (Gentianopicroin und Amarogentin). Die Bitterstoffe dienen eigentlich als Schutz vor Tierfraß. Die Droge wird als Bittermittel, z.B.

als appetitanregender Magenbitter, Aperitif und für Schnaps verwendet. Der Gelbe Enzian wird auch als Fiebermittel benutzt; die Wirksamkeit gegen Fieber konnte jedoch nicht nachgewiesen werden. Es wird ein bitteres und verdauungsanregendes Tonikum gewonnen. Er wird eingesetzt gegen Müdigkeit, Untergewicht, Blutarmut und Appetitmangel in der Rekonvaleszenz (SCHÖPKE 2011). Aufgrund der langen Generationszeit, geringer Keimfähigkeit der Samen, sowie hoher Variabilität von generativ erzeugten Pflanzen bietet die Gewebekultur eine gute Alternative zur Erzeugung von inhaltsstoffreichen Pflanzen.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Die Mutterpflanzen von *G. lutea* (Wurzeln, Knollen) wurden in Sand angezogen. Nach dem Austreiben der ersten 2-3 cm erfolgte der Schnitt (*Abbildung 1*).



Abbildung 1: Frisch etablierte Gentiana lutea Kulturen

Figure 1: Freshly established in vitro micropropagation of Gentiana lutea

Sterilisation

Die Sterilisation erfolgte mit 70% Ethanol für 5 m, 20% Danchlor für 5 m und HgCl₂ (0,2%) für 5 m. Der Schnitt erfolgte so, dass das Hauptmeristem und die Meristeme der Blattanlagen an der Basis der Wurzel weiterwachsen konnten.

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

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

Vermehrung und Bewurzelung

Die Vermehrung erfolgte auf Medium LV1 (Luteavermehrung) (Abbildung 2). Dies ist ein modifiziertes MS-Medium (MURASHIGE und SKOOG 1962) mit Glucose (1,5%) und Saccharose (1,5%), sowie einem Vitaminzusatz aus Thiamin ($0,3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), L-Tyrosin ($100 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Adeninsulfat ($80 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) und Ascorbinsäure ($200 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), Gelrite ($3 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$), pH 5,8, sowie den Phytohormonen BAP ($6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$), NAA ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) und Gibberellinsäure ($1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$). Nach ca. einem Monat wurden sterile Kulturen (Hauptexplantate) diametral geteilt und auf frisches Vermehrungsmedium gegeben. In der Folge wurde das Vermehrungsmedium folgendermaßen modifiziert (LV2). Die BAP-Konzentration auf $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ gesenkt, NAA auf $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ und auf die Gibberellinsäure wurde verzichtet. Zur Bewurzelung wurde ein WPM-Medium (LLOYD und McCOWN 1980) mit Glucose (0,75%) und Saccharose (0,75%), sowie IBA ($0,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) verwendet.



Abbildung 2: *Gentiana lutea* auf Vermehrungsmedium LV
Figure 2: *Gentiana lutea* on LV medium (modified MS medium)

Inkubationsbedingungen und Transfer ins Glashaus

Die Kultivierung erfolgte im 16 h Tag bei 23°C . Zur Akklimatisierung wurden die bewurzelten Pflanzen in ein Gemisch aus Sand, Tennenrot, aufgedüngtem Torfkultursubstrat und Perlit gepflanzt und für drei Wochen in einem Inkubator mit hoher Luftfeuchte (80-90%) gehalten. Anschließend wurden die Pflanzen für 6 bis 8 Wochen im Glashaus kultiviert (Abbildung 3) und vor dem Auspflanzen im Freien abgehärtet.



Abbildung 3: *Gentiana lutea* im Glashaus
Figure 3: Regenerated *Gentiana lutea* plants in the greenhouse

Ergebnisse und Diskussion

Es ist allgemein bekannt, dass es sehr schwierig ist, *in vitro*-Kulturen von *Gentiana* Arten zu etablieren, da dafür eine sehr hohe Konzentration von Cytokinin erforderlich ist (LAMPROYE et al. 1987, HOSOKAWA et al. 1996). Aus diesem Grund wurde eine BAP-Konzentration von $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ gewählt (MOMČILOVIĆ 1997) und ein Vitaminzusatz, der zuvor bei der Kultur von Bananen erfolgreich erprobt worden war, angewendet. Dies führte zu einer erfolgreichen Vermehrung der Explantate. Bei der Verwendung von LV1 (BAP $6 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) entwickelten sich buschige Pflanzen mit mehreren dünnen Seitentrieben. Die Dauer einer Passage betrug ca. 6 Wochen. Die Vermehrungsrate pro Passage lag bei 6-8. Allerdings war es sofort nach der Verwendung von LV1 nicht möglich, die Pflänzchen zu bewurzeln. Schwierigkeiten bei der Bewurzelung von *G. lutea* sind auch aus der Literatur bekannt (LAMPROYE et al. 1987). Aus diesem Grund wurde eine weitere Passage auf Medium LV2 (BAP $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, NAA $0,5 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) vermehrt und anschließend auf Bewurzelungsmedium umgesetzt.

Zur Bewurzelung wurden verschiedene Medien- und Auxinkonzentrationen erprobt (Daten nicht gezeigt). Schließlich erwies sich ein Woody Plant Medium (LLOYD und McCOWN 1980) mit Glucose (0,75%) und Saccharose (0,75%), sowie IBA ($0,2 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$) als erfolgreich.

Die Bewurzelungsrate lag bei ca. 75%. Dies stimmt mit den Bewurzelungsdaten von VIOLA und FRANZ 1989, überein. Bei der Verwendung von NAA als Auxin, konnten wir allerdings, im Gegensatz zu diesen, keine Bewurzelung erzielen. Bei der Kultivierung im Glashaus überlebten durchschnittlich 50 Prozent der Pflanzen. Bei einigen Chargen jedoch, die länger (bis zu 9 Wochen) auf dem Bewurzelungsmedium blieben, konnte eine Überlebensrate von 90 % beobachtet werden.

Zusammenfassend lässt sich feststellen, dass es gelungen ist, eine effiziente *in vitro* Vermehrungsmethode für *G. lutea* zu

entwickeln, die in Zukunft für die Produktion von inhaltsstoffreichen *Gentiana lutea*-Klonen zur Verfügung steht.

Danksagung

Wir danken Herrn Rathbauer und seinem Team für die gärtnerische Betreuung der Pflanzen, sowie der Firma Bionorica SE, Neumarkt, für die Bereitstellung der Mutterpflanzen.

Literatur

- HOSOKAWA K, NAKANO M, OIKAWA Y, YAMAMURA S, 1996: Adventitious shoot regeneration from leaf, stem and root explants of commercial cultivars of *Gentiana*. *Plant Cell Rep* 15: 578-581.
- LAMPROYE A, CREVECOEUR M, KEVERES C, GASPAR T, 1987: Multiplication végétative *in vitro* de *Gentiana lutea* et de *Gentiana pneumonante*. *Med Fac Landbouw Rijksuniv Gent* 52: 1255-1257.
- LANGED, 1998: Europe's medicinal and aromatic plants: Their use, trade and conservation. *Traffic Int*, Cambridge.
- LLOYD G, McCOWN B, 1980: Commercially-feasible micropropagation of mountain laurel, *Kalmia latifolia*, by use of shoot-tip culture. *Proc Int Plant Prop Soc* 30: 421-427.
- MOMČILOVIĆ I, GRUBIŠIĆ D, NEŠKOVIĆ M, 1997: Micropropagation of four *Gentiana* species (*G. lutea*, *G. cruciata*, *G. purpurea* and *G. acaulis*). *Plant Cell Tiss Org Cult* 49: 141-144.
- MURASHIGE T, SKOOG F, 1962: A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol Plant* 15: 473-497.
- SCHÖPKE T, 2011: Enzianwurzel - *Gentianae radix* [Ph. Eur. 7.0 (01/2008: 0392)]. *Arzneipflanzenlexikon*, Institut für Pharmazie, Ernst-Moritz-Arndt-Universität Greifswald. [Available online: http://www.pharmakobotanik.de/systematik/6_droge/gentia-r.htm; accessed 10 Jan 2012]
- VIOLA U, FRANZ C, 1989: *In vitro* propagation of *Gentiana lutea*. *Planta Med* 55: 690.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält alle Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage der Jahrestagung (<http://www.raumberg-gumpenstein.at/> - Downloads - Fachveranstaltungen/Tagungen - Saatzüchtertagung - Saatzüchtertagung 2011) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Marker assisted breeding for improving Fusarium head blight resistance in wheat

Hermann Buerstmayr^{1*}, Aziz Salameh^{1,2}, Maria Buerstmayr¹,
Barbara Steiner¹, Anton Neumayer³ and Marc Lemmens¹

Abstract

Breeding for Fusarium head blight (FHB) resistance of wheat is a continuous challenge for plant breeders. Resistance to FHB is a quantitative trait, governed by several to many genes and modulated by environmental conditions. QTL for FHB resistance have been detected on virtually all wheat chromosomes, but only a few have been validated so far for their usefulness in breeding (BUERSTMAYR et al. 2009). The presented study was undertaken to assess the effect on improving FHB resistance of two resistance QTL, i.e. *Fhb1* and *Qfhs.ifa-5A*, from the CIMMYT spring wheat line CM-82036 when transferred by marker assisted back-crossing in European winter wheat. To achieve these goals we developed and evaluated 15 BC2 derived families based on 9 European winter wheat varieties as recipients and the FHB resistant line CM-82036 as resistance donor. Winter wheat back-cross lines with one QTL from the resistant donor showed

a clear tendency towards increased FHB resistance. On average lines with *Fhb1+Qfhs.ifa-5A* were only slightly more resistant compared to lines with *Fhb1* alone. The obtained results suggest that the effect of the spring wheat derived QTL on improving FHB resistance increases in the order *Qfhs.ifa-5A < Fhb1 ≤ Qfhs.ifa-5A + Fhb1*. The genetic background of the recipient line had huge impact on the resistance level of the obtained lines. No systematic negative effect of the spring wheat derived QTL on grain yield, thousand grain weight, hectolitre weight and protein content was found. The use of spring wheat derived FHB resistance QTL for breeding high yielding cultivars with improved FHB resistance appears therefore highly promising. For more details see SALAMEH et al. (2011).

Keywords

Fusarium head blight, QTL performance, resistance breeding, *Triticum aestivum*

References

- BUERSTMAYR H, BAN T, ANDERSON JA, 2009: QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breed* 128: 1-26.
- SALAMEH A, BUERSTMAYR M, STEINER B, NEUMAYER A, LEMMENS M, BUERSTMAYR H, 2011: Effects of introgression of two QTL for Fusarium head blight resistance from Asian spring wheat by marker-assisted backcrossing into European winter wheat on Fusarium head blight resistance, yield and quality traits. *Mol Breed* 28: 485-494.

Note: A similar contribution was presented at the 11th European Fusarium Seminar, Radzikow, 20-24 Sep 2010, at the US Fusarium Head Blight Forum, Milwaukee, 7-9 Dec 2010 and the 21st ITMI Workshop, Mexico, 5-9 Sep 2011.

¹ BOKU - University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Department IFA-Tulln, Institute for Biotechnology in Plant Production, Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN

² Hebron University, Hebron, Palestine

³ Saatzucht Donau GmbH & Co KG, A-4981 Reichersberg am Inn 86, Austria

* Ansprechpartner: Hermann BUERSTMAYR, hermann.buerstmayr @boku.ac.at

Molecular mapping of resistance to Fusarium head blight in tetraploid wheat

Karin Huber, Abdallah Issam Alimari, Johannes Heckmann, Maria Buerstmayr,
Marc Lemmens, Barbara Steiner and Hermann Buerstmayr^{1*}

Abstract

While many reports on genetic analysis of Fusarium head blight (FHB) resistance in bread wheat have been published during the past decade, only limited information is available on FHB resistance derived from tetraploid wheat so far. In this contribution we report about genetic analysis of FHB resistance derived from two tetraploid *Triticum* sources: (1) *Triticum dicoccum* (cultivated emmer), and (2) *T. dicoccoides* (wild emmer). Backcross derived recombinant inbred line populations were developed from crosses of the resistance donors with adapted *T. durum* cultivars. The populations were evaluated for FHB response in well replicated experiments with artificial inoculation in the greenhouse (*T. dicoccoides*) or field (*T. dicoccum*). The same lines were genetically

analysed using SSR and AFLP markers. Map construction based in the backcross derived RIL populations was done with CarthaGène (DE GIVRY et al. 2004) and QTL mapping in QGene (NELSON 1997). Several QTL were identified. In the *T. dicoccum* populations the largest QTL mapped to chromosome 4B, overlapping with the semi-dwarf gene Rht-B1. In the *T. dicoccoides* accession Mt. Gerizim #36 significant QTL for resistance to fungal spreading (type 2 resistance) were detected on chromosomes 3A and 6B. These resistance QTL should be useful especially in durum wheat improvement.

Keywords

Fusarium head blight, marker assisted resistance breeding, QTL mapping, tetraploid wheat

Acknowledgments

We acknowledge funding of this work by FWF (Austrian Science Fund), project number: 17310-B05. Abdallah Alimari was supported by a North-South Dialogue grant, funded by the Austrian Ministry of Foreign Affairs and managed by the Austrian Academic Exchange Service (OEAD). We acknowledge Clare Nelson (Kansas State University, USA) for modifying the CarthaGène program to facilitate map construction from an advanced back-cross population.

References

- DE GIVRY S, BOUCHEZ M, CHABRIER P, MILAN D, SCHIEX T, 2005: Multipopulation integrated genetic and radiated hybrid mapping. *Bioinformatics* 21: 1703-1704.
- NELSON JC, 1997: QGENE: Software for marker-based genomic analysis and breeding. *Mol Breed* 3: 239-245.
- Note: A similar contribution was presented at the 11th European Fusarium Seminar, Radzikow, 20-24 Sep 2010, at the US Fusarium Head Blight Forum, Milwaukee, 7-9 Dec 2010.

¹ BOKU - University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Department IFA-Tulln, Institute for Biotechnology in Plant Production, Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN

* Ansprechpartner: Hermann BUERSTMAYR, hermann.buerstmayr @boku.ac.at

Expression-QTL mapping in wheat to identify genes involved in resistance to *Fusarium graminearum*

Mina Samad-Zamini¹*, Wolfgang Schweiger, Erik Sam, Gerald Siegwart, Barbara Steiner, Marc Lemmens and Hermann Buerstmayr

Abstract

Fusarium head blight (FHB) caused by *Fusarium graminearum* frequently leads to large yield losses in wheat and other cereals but also reduces quality due to contamination with mycotoxins. Breeding for resistance against the disease in wheat provides the best means to protect yields. In the present study, we aim to identify genes which are differentially expressed in response to *Fusarium* in wheat. Therefore, we employ 200 doubled haploid lines and the two parents (the resistant line CM82036 and the susceptible European spring wheat cultivar Remus) in an expression quantitative trait loci (eQTL) mapping experiment using microarray technology. Expression QTL starts with generating a genetic map using differentially expressed genes between lines as molecular markers to identify genomic regions involved in *Fusarium* resistance. Microarrays allow to measure differential transcript abundance by detecting fluorescent emission of labeled-mRNA hybridized to complementary probe sets. We used a custom-build Agilent-microarray

to identify genes differentially regulated under varying experimental conditions (e.g. time, genotype, *Fusarium* vs. water inoculation). Our array-design allows to detect 44000 wheat genes, several hundred wheat candidate genes that have been reported upregulated in response to *Fusarium* stress in literature and the entire transcriptome of *Fusarium graminearum* (ca. 14000 genes). In total, we aim to hybridize about 400 microarrays. Once finished, we are able to compare and correlate the genetic map derived from conventional QTL analysis with the new eQTL map. We expect to identify new QTL involved in *Fusarium* resistance that encode for resistance genes or regulative hotspots controlling multiple genes not encoded on the eQTL. Such hotspots and the related genes cannot be detected by conventional QTL mapping and enables us to build biochemical pathways that are relevant for resistance against *Fusarium*.

Keywords

Expression QTL, microarray, QTL analysis, transcript abundance

References

- BUERSTMAYR H, STEINER B, HARTL L, GRIESSER M, ANGERER N, LENGAUER D, MIEDANER T, SCHNEIDER B, LEMMENS M, 2003: Molecular mapping of QTLs for *Fusarium* head blight resistance in spring wheat. II. Resistance to fungal penetration and spread. *Theor Appl Genet* 107: 503-508.
- CHEUNG VG, SPIELMAN RS, 2009: Genetics of human gene expression: mapping DNA variants that influence gene expression. *Nature Rev Genet* 10: 595-604.
- KLIEBENSTEIN D, 2009: Quantitative genomics: analyzing intraspecific variation using global gene expression polymorphisms or eQTL. *Ann Rev Plant Biol* 60: 93-114.

¹ BOKU - University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Department IFA-Tulln, Institute for Biotechnology in Plant Production, Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN

* Ansprechpartner: Mina SAMAD-ZAMINI, mina.zamini@boku.ac.at

Reconstruction and cloning of wheat UDP-glucosyltransferases with the putative ability to inactivate the *Fusarium* toxin deoxynivalenol

Andreas Teutschl¹, Wolfgang Schweiger^{1*}, Gerald Siegwart¹, Erik Sam¹, Barbara Steiner¹,
Hermann Bürstmayr¹, Marc Lemmens¹ and Gerhard Adam²

Abstract

Fusarium graminearum frequently infects wheat and barley causing severe contamination of the harvested material with mycotoxins, such as deoxynivalenol (DON). Wheat lines harboring the *Fhb1* resistance QTL have been shown to accumulate higher levels of the non-toxic DON-3-glucoside (LEMMENS et al. 2005). The compound is generated by the activity of UDP-glucosyltransferases (UGT), which consequently have been implicated with playing a role in the resistance of wheat and other plants to *Fusarium* head blight. Previous transcriptomic studies in our group have led to the identification of 16 candidate UGT genes in wheat that are specifically upregulated in response to *Fusarium* stress. Among them we identified a UGT gene (Ta.12887.1.S1) which is a close homolog to a UGT gene from barley, which was shown to exhibit the ability to transform DON into DON-3-glucoside (SCHWEIGER et al. 2010). Another candidate UGT (Ta.22565.1.S1) is closely related to the *Arabidopsis* UGT73C5 gene, which also accepts DON as substrate. The group of upregulated UGTs comprises also a gene (EX982036) similar to a UGT previously identified by STEINER et al. (2009) in a wheat cDNA-AFLP analysis. As probe sets from microarrays derive from expressed sequence tags (ESTs) whose sequence

is not fully known, the starting point of our work was to reconstruct the full-length genes for subsequent cloning. For this purpose we have employed the Unigene-EST databases provided by NCBI and TIGR, public resources for large-scale plant gene expression such as Plexdb and next sequencing data from the UK wheat sequencing project (<http://www.cerealsdb.uk.net/>). We managed to reconstruct Ta.22565.1.S1 and EX982036 in silico, PCR-amplified both genes and cloned into a pGEM-T-easy cloning vector. Ta.22565.1.S1 was subcloned into a yeast expression to transform toxin-sensitive yeast strains and test the transformed strains for enhanced resistance against DON. These tests have not been performed yet. Capturing Ta.12887.1.S1 so far has been unsuccessful as the N-terminal region of the gene harbors a large GC-rich region, which complicates cloning of the gene. Also the hexaploid nature of wheat makes it extremely difficult to distinguish targets whose sequence is only partially known from homoealleles. To speed up our tests Ta.12887.1.S1 was ultimately custom synthesized and is currently tested in yeast.

Keywords

Deoxynivalenol, *Fusarium*, UDP-glucosyltransferases, wheat

References

- LEMMENS M, SCHOLZ U, BERTHILLER F, DALL'ASTA C, KOUTNIK A, SCHUHMACHER R, BUERSTMAYR H, MESTERHAZY A, KRŠKA R, RUCKENBAUER P, 2005: The ability to detoxify the mycotoxin deoxynivalenol colocalizes with a major quantitative trait locus for *Fusarium* head blight resistance in wheat. *Mol Plant-Microbe Interact* 18: 1318-24.
- SCHWEIGER W, BODDU J, SHIN S, POPPENBERGER B, BERTHILLER F, LEMMENS M, MUEHLBAUER GJ, ADAM G, 2010: Validation of a candidate deoxynivalenol-inactivating UDP-glucosyltransferase from barley by heterologous expression in yeast. *Mol Plant-Microbe Interact* 23: 977-986.
- STEINER B, KURZ H, LEMMENS M, BUERSTMAYR H, 2009: Differential gene expression of related wheat lines with contrasting levels of head blight resistance after *Fusarium graminearum* inoculation. *Theor Appl Genet* 118: 753-64.

¹ BOKU - University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Department IFA-Tulln, Institute for Biotechnology in Plant Production, Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN

² BOKU - University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Department of Applied Genetics and Cell Biology, Konrad Lorenz Straße 24, A-3430 TULLN

* Ansprechpartner: Wolfgang Schweiger, wolfgang.schweiger@boku.ac.at

QTL mapping of adult plant leaf rust and stripe rust resistance derived from the Austrian winter wheat cultivar Capo

Lydia Matiasch^{1*}, Maria Buerstmayr¹, Katharina Herzog¹, Ján Kraic², Valéria Šudyová², Svetlana Šliková², Franziska Löschenberger³, Marion Marn³, Julia Lafferty³, Marianna Ittu⁴, Gyula Vida⁵, Fabio Mascher⁶, Lorenz Hartl⁷, Kerstin Flath⁸ and Hermann Buerstmayr¹

Abstract

Leaf rust caused by *Puccinia triticina* is among the most prevalent leaf diseases of wheat worldwide. The Austrian cultivar Capo possesses quantitative and durable adult plant leaf rust resistance, but does not possess any effective major *Lr* gene to our knowledge. We developed and tested three recombinant inbred line populations: Capo×Isengrain, Capo×Furore and Capo×Arina for adult plant leaf rust resistance in well replicated field experiments over locations and years under high disease pressure. In addition, the Capo×Furore population was tested for stripe rust (*P. striiformis*) resistance. In parallel the three populations were genetically fingerprinted with molecular markers (SSR, AFLP and DArT). We genotyped and genetically mapped at least 620 polymorphic markers per population. We calculated linkage maps of all three populations and detected quantitative trait loci

(QTL) for leaf rust resistance. Highly significant Capo derived QTL for leaf resistance were located on chromosomes 2A, 2B and 3B, supporting the hypothesis of quantitative rust resistance in this cultivar. Interestingly in the Capo×Isengrain population the strongest QTL derived from the susceptible parent (Isengrain) and mapped to chromosome 7B, corresponding most likely to the gene *Lr14a*. In addition we found two major QTL for stripe rust resistance in the Capo×Furore population on chromosomes 2B and 3B. The obtained results will be useful for selection and breeding of new cultivars with durable adult plant resistance to leaf rust and stripe rust.

Keywords

Puccinia striiformis, *Puccinia triticina*, QTL mapping, resistance breeding, *Triticum aestivum*

Acknowledgments

This work is funded by the Austrian Science Fund (FWF), project number L182-B06 with additional support from the European Union: INTERREG IIIA Austria-Slovakia (EFRE co-financing) and the government of Lower Austria.

Note: A similar contribution was presented at the 21st ITMI Workshop, Mexico, 5-9 Sep 2011.

¹ BOKU - University of Natural Resources and Life Sciences Vienna, Department IFA-Tulln, Institute for Biotechnology in Plant Production, Konrad Lorenz Straße 20, A-3430 TULLN

² Institute of Plant Production, SK-92168 PIEŠŤANY

³ Saatzucht Donau, A-2301 PROBSTDORF

⁴ National Agricultural Research-Development Institute, RO-915200 FUNDULEA

⁵ Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, H-2462 MARTONVASAR

⁶ Station de Recherche Agroscope, CH-8820 CHANGINS-WÄDENSWIL

⁷ Bavarian State Institute for Agriculture, D-85356 FREISING

⁸ Julius Kühn-Institute, Federal Research Centre for Cultivated Plants, D-38100 BRAUNSCHWEIG

* Ansprechpartner: Hermann Buerstmayr, hermann.buerstmayr@boku.ac.at

