

Vereinigung der Pflanzzüchter  
und Saatgutkaufleute Österreichs

# 63. Tagung

19. - 21. November 2012

Resistenz gegen biotischen Stress in der Pflanzenzüchtung  
Resistenz gegen abiotischen Stress in der Pflanzenzüchtung

Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt  
für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

## **Impressum**

### **Tagungsband der 63. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 19.-21. November 2012, Raumberg-Gumpenstein**

#### *Herausgeber*

Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs  
Wiener Straße 64, A-3100 St. Pölten  
Tel.: +43 50 259 22500 Fax: +43 50 259 95 22500  
email: office@saatgut-oesterreich.at; www.saatgut-oesterreich.at  
Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt  
für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein  
Direktor Prof. Dr. Albert Sonnleitner und Dr. Anton Hausleitner

*Für den Inhalt verantwortlich*  
die Autoren

#### *Redaktion*

Dr. Anton Brandstetter, Manuela Geppner  
Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs  
  
a.o.Univ.Prof. Dr. Heinrich Grausgruber  
Universität für Bodenkultur Wien  
  
Univ.Doiz. Dr. Karl Buchgraber  
Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein (LFZ)

#### *Layout*

Brunhilde Egger und Sandra Illmer  
Institut für Pflanzenbau und Kulturlandschaft  
Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein (LFZ)

#### *Druck, Verlag und © 2013*

Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein  
(Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein)  
Raumberg 38, A-8952 Irdning  
Tel: (+43)03682/22451-0, Fax: (+43)03682/22451-210  
email: office@raumberg-gumpenstein.at

ISBN-13:978-3-902559-88-3  
ISSN: 2072-9596

# Vorwort

Michael Gohn<sup>1\*</sup>

## Sehr geehrte Damen und Herren, geschätzte Gäste aus dem In- und Ausland!

Wie jedes Jahr darf ich Sie hier sehr herzlich als Freunde unserer Tagung in Gumpenstein begrüßen und freue mich über die zahlreiche Teilnahme.

Ebenso möchte ich mich auch wie üblich sehr herzlich bei der Schule hier in Raumberg-Gumpenstein für die Bereitstellung des Tagungsraumes bedanken und begrüße als Vertreter von Dir. Sonnleitner Herrn Dr. Erich M. Pötsch. Ich bedanke mich auch bei Dr. Karl Buchgraber für die jährliche Vorbereitungsarbeit, und hoffe, auch im kommenden Jahr auf die steirische Gastfreundschaft zählen zu dürfen. Das wissenschaftliche Programm hat in bewährter Weise Herr Prof. Heinrich Grausgruber zusammengestellt und die zahlreichen Vortragenden eingeladen.

Heuer erstmalig starten wir den Versuch, die Tagung im Sinne der Zeitökonomie einen halben Tag früher zu starten, also bereits Montag nachmittags, und dafür bereits Mittwoch zu beenden. Damit bleiben 2 Arbeitstage in der Woche erhalten. Wir werden im Anschluss das Ergebnis analysieren, aber ich denke wir werden bei diesem Modus bleiben.

Den wissenschaftlichen Schwerpunkt der diesjährigen Tagung haben wir der Resistenz gegen biotischen und abiotischen Stress gewidmet. Stress ist ein Dauerthema für alle Bereiche des Lebens, und die Pflanzen müssen auch mit Klimawandel und diversen Pathogenen zurecht kommen. Es konnten viele hochwertige Präsentationen gewonnen werden, und ich wünsche Ihnen fruchtbringende Gespräche im Kollegenkreis.

In diesem Sinne eröffne ich diese 63. Tagung und wünsche Ihnen einen angenehmen Aufenthalt und eine erfolgreiche Tagung.

---

<sup>1</sup> Obmann der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Wiener Straße 64, A-3100 ST. PÖLTEN

\* Dr. Michael GOHN, michael.gohn@mauthner.co.at



# Inhaltsverzeichnis

## Table of contents

<b>Molecular breeding for virus resistance in cereals - present state and future perspectives</b> .....1 Frank Ordon, Antje Habekuß, Edgar Schliephake, Dragan Perovic, Ilona Krämer and Christine Riedele	1
<b>Die Übertragung einer hochwirksamen Resistenz gegenüber BYDV aus <i>Hordeum bulbosum</i> für die Gerstezüchtung</b> .....3 Brigitte Ruge-Wehling, Janine Wojacki, Kristin Fischer, Björn Rotter und Peter Wehling	3
<b>Resistenzzüchtung beim Steirischen Ölkürbis</b> .....7 Martin Pachner, Johanna Winkler und Tamas Lelley	7
<b>Studies on grass viruses in Austria</b> .....11 Frank Rabenstein and Herbert Huss	11
<b>Evaluation of disease resistance in wheat supplemented with <i>Pm3b</i></b> .....15 Fabio Mascher, Caterina Matasci, Yvan Kneubuehler, Susanne Brunner, Arnold Schori and Beat Keller	15
<b>Fusarium head blight resistance in modern winter wheat: association of plant morphological traits with resistance and relation of resistance to <i>F. graminearum</i> with resistance to <i>F. sporotrichioides</i></b> .....19 Hermann Buerstmayr, Maria Buerstmayr, David Bloech, Marc Lemmens, Jutta Förster, Laure Duchalais, Delphine Hourcade, Laurent Guerreiro, Valerie Laurent and Olivier Robert	19
<b>Mapping of QTL for Fusarium head blight resistance in three backcross populations derived from <i>Triticum dicoccum</i> × <i>T. durum</i></b> .....21 Maria Buerstmayr, Karin Huber, Johannes Heckmann, Barbara Steiner, James C. Nelson and Hermann Buerstmayr	21
<b>Kombinierte Krankheitsresistenzen bei Weizen durch quantitative Breitspektrumsresistenz</b> .....23 Thomas Miedaner und Peter Risser	23
<b>Auswirkungen geänderter Pflanzenschutzrahmenbedingungen auf die Pflanzenzüchtung</b> .....27 Gottfried Besenhofer	27
<b>Use of beneficial microorganisms for crop improvement</b> .....29 Friederike Trognitz, Birgit Mitter, Naveed Muhammad, Günter Brader and Angela Sessitsch	29
<b>Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag bei Sojabohnen (<i>Glycine max</i>)</b> .....33 Benno Voit, Georg Salzeder und Berta Killermann	33
<b>EU-Verordnung für Vermehrungsgut - Stand der Diskussion</b> .....37 Heinz-Peter Zach	37
<b>Evaluation of the dominant dwarfing gene <i>Ddw1</i> with respect to its use in hybrid rye breeding</b> .....41 Bernd Hackauf, Maria T. Goldfisch, Dörthe Musmann, Gilbert Melz and Peter Wehling	41
<b>Sortenprüfung der Anfälligkeit gegenüber Streifenkrankheit der Gerste und Weizensteinbrand</b> .....43 Manfred Weinhappel, Michael Oberforster, Clemens Flamm und Martin Plank	43
<b>Association mapping for common bunt resistance in wheat</b> .....49 Philipp Steffan, Anders Borgen, Søren K. Rasmussen, Jihad Orabi and Gunter Backes	49
<b>Wheat screening for resistance to common bunt and dwarf bunt</b> .....51 Veronika Dumalasová and Pavel Bartoš	51
<b>Nachweis über die Dauer der Infektionsfähigkeit von Steinbrand- (<i>Tilletia caries</i>) und Zwergsteinbrandsporen (<i>T. controversa</i>) im Boden und Stallmist unter Berücksichtigung verschiedener Fruchtfolgen in Biobetrieben</b> .....55 Robert Bauer, Benno Voit, Berta Killermann und Kurt-Jürgen Hülsbergen	55

<b>Probleme mit Auswinterung, Trockenstress, Virose, Spätfrost und Zwiewuchs bei Weizen und Wintergerste im Jahr 2012 in Österreich</b> .....	57
Michael Oberforster	
<b>Untersuchungen der Reaktionen verschiedener Gerstegenotypen auf zukünftige CO<sub>2</sub>-Konzentrationen als Grundlage zur züchterischen Optimierung des „CO<sub>2</sub>-Düngeeffektes“</b> .....	65
Esther Mitterbauer, Frank Ordon, Antje Habekuß, Martin Erbs, Matthias Enders, Benjamin Kilian, Hans-Joachim Weigel, Anette Giesemann und Jürgen Bender	
<b>Effect of elevated atmospheric CO<sub>2</sub> level on the abiotic and biotic stress tolerance of cereals</b> .....	69
Szilvia Bencze, Krisztina Balla, Tibor Janda, Gyula Vida and Ottó Veisz	
<b>Feldstudien zur Vererbung der Trockenheitstoleranz von Hybridroggen in Mitteleuropa</b> .....	73
Stefan Haffke, Marlen Hübner, Peer Wilde, Brigitta Schmiedchen, Barbara Kusterer, Bernd Hackauf und Thomas Miedaner	
<b>Genetische Variabilität von Sommergerste unter Trockenstress in einem Rain Out Shelter</b> .....	77
Gabriela Reichenberger, Chris-Carolin Schön und Markus Herz	
<b>Durum in a changing climate - drought stress during growing seasons in Syria</b> .....	83
Manuela Nagel, Sheeba Navakode, Miloudi Nachit, Michael Baum, Marion S. Röder and Andreas Börner	
<b>Praktische Anwendbarkeit von Trockenstressparametern für die Weizenzüchtung</b> .....	87
Clemens Flamm, Sabrina Scheriau, Elisabeth Zechner, Maren Livaja und János Pauk	
<b>Hohe Glucosinolatgehalte in Raps - eine Folge der Klimaänderung</b> .....	95
Manfred Werteker, Klemens Mechtler und Gabriela Kramreither	
<b>Association mapping for pre-harvest sprouting tolerance in European winter wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) germplasm</b> .....	97
Volker Mohler, Michael Oberforster and Lorenz Hartl	
<b>Study of yield components under heat stress conditions in wheat</b> .....	99
Krisztina Balla, Ildikó Karsai, Szilvia Bencze, Tibor Kiss and Ottó Veisz	
<b>Roggenschwarzrost, <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>secalis</i>, mit resistenten Sorten kontrollieren</b> .....	103
Kerstin Flath, Bettina Klocke, Anne Kristin Schmitt, Brigitta Schmiedchen, Peer Wilde, Hartmut Spieß und Thomas Miedaner	
<b>Selection for drought resistance of wheat using electrical capacity measurements as indicators for root system size</b> .....	107
Anna Hermanska, Ladislav Blaha and Irena Bizova	
<b>Effect of different soil moisture and meteorological conditions on the water regime of maize (<i>Zea mays</i> L.)</b> .....	109
Jana Klimešová, Tomáš Středa and Karel Drápal	
<b>CORNET EFFICIENT WHEAT - Improving nitrogen efficiency in European winter wheat under drought stress</b> .....	113
Maren Livaja, Manuela Diethelm, Adelheid Castell and Lorenz Hartl	
<b>Einfluss von Reifeunterschieden auf das Auswuchsverhalten und die Fallzahl von Winterweizensorten</b> .....	117
Michael Oberforster, Anton Neumayer, Elisabeth Zechner und Lorenz Hartl	
<b>Differences in the drought stress response of winter wheat</b> .....	121
Eva Truhlářová, Tereza Ryšková, Pavlína Smutná, Ludmila Holková and Jana Klimešová	

## Molecular breeding for virus resistance in cereals - present state and future perspectives

Frank Ordon<sup>1\*</sup>, Antje Habekuß<sup>1</sup>, Edgar Schliephake<sup>1</sup>,  
Dragan Perovic<sup>1</sup>, Ilona Krämer<sup>1</sup> and Christine Riedele<sup>1</sup>

### Abstract

Soil-borne viruses, i.e. *Barley yellow mosaic virus* (BaYMV) and *Barley mild mosaic virus* (BaMMV), with respect to barley and *Soil-borne cereal mosaic virus* (SBCMV) in wheat, have gained evident importance in Europe during the last decades. The same holds true for insect transmitted viruses like the aphid transmitted *Barley yellow dwarf virus* (BYDV) and *Cereal yellow dwarf virus* (CYDV), or the leafhopper transmitted *Wheat dwarf virus* (WDV, for review cf. ORDON et al. 2009).

With respect to BaMMV/BaYMV several resistance genes have been mapped in the barley genome (ORDON et al. 2009, KAI et al. 2012) and molecular markers are available facilitating efficient marker based selection procedures (PALLOIX and ORDON 2011) and pyramiding of resistance genes (WERNER et al. 2005). Out of these, the *Rym4/Rym5* locus comprising the translation initiation factor 4E (*Hv-eIF4E*) has been isolated (STEIN et al. 2005) and several alleles were identified at this locus (STRACKE et al. 2007, HOFINGER et al. 2011). The isolation of additional resistance genes is in progress and using genomic resources and tools available today, e.g. the genome-zipper (MAYER et al. 2011), markers co-segregating with *rym11* on a high resolution mapping population have been developed (LÜPKEN et al. 2013). While BaMMV/BaYMV are of prime importance in Europe, SBCMV is mostly a threat to wheat cultivation in France and Italy up to now. Using DH-lines and field testing in France the resistance gene *Sbm1* was located on chromosome 5DL5 and a diagnostic marker was developed facilitating efficient marker based selection and quarantine breeding (PEROVIC et al. 2009).

On the world wide level barley yellow dwarf is the most important viral disease of cereals. Besides the resistance gene *Ryd4<sup>Hb</sup>*, which confers complete resistance to BYDV but cannot be used in barley breeding due to linkage drag up to now (SCHOLZ et al. 2009), *Ryd2* (COLLINS et al. 1996), *Ryd3* (NIKS et al. 2004) and several QTL (TOOJINDA et al. 2000, SCHEURER et al. 2001) are known conferring tolerance to BYDV. Marker based pyramiding of these genes in doubled haploid lines revealed that a combination of *Ryd2* and *Ryd3* leads to a significantly reduced virus titre, i.e. quantitative resistance to BYDV (RIEDEL et al. 2011). Analyses based on the electrical penetration graph (EPG) technique revealed that *R. padi* - one of the main vectors of BYDV - shows a significantly reduced time of phloem salivation on genotypes carrying *Ryd4<sup>Hb</sup>*, giving hint that this fact maybe involved in BYDV resistance (SCHLIEPHAKE et al. 2013).

In summary, molecular markers facilitate already today efficient selection procedures to improve virus resistance in cereals. The availability of dense marker maps, high throughput genotyping platforms, physical maps and genome sequences of cereals itself and related species will facilitate an enhanced isolation of resistance genes in the future thereby leading to a deeper understanding of virus resistance and the transfer of marker based selection to the allele level. This together with new selection strategies, e.g. genomic selection procedures, will lead to an enhanced breeding of virus resistant cultivars.

### Keywords

BaMMV, BaYMV, BYDV, cereals, molecular breeding, molecular markers, SBCMV, virus resistance

### References

- COLLINS NC, PALTRIDGE NG, FORD CM, SYMONS RH, 1996: The *Yd2* gene for barley yellow dwarf virus resistance maps close to the centromere on the long arm of barley chromosome 3. *Theor Appl Genet* 92, 858-864.
- HOFINGER BJ, RUSSEL JR, BASS CG, BALDWIN T, DOS REIS M, HEDLEY PE, LI Y, MACAULAY M, WAUGH R, HAMMOND KOSACK KE, KANYUKA K, 2011: An exceptionally high nucleotide and haplotype diversity and a signature of positive selection for the eIF4E resistance gene in barley are revealed by allele mining and phylogenetic analyses of natural populations. *Mol Ecol* 20, 3653-3668.
- KAI H, TAKATA K, TSUKAZAKI M, FURUSHO M, BABA T, 2012: Molecular mapping of *Rym17*, a dominant and *rym18* a recessive barley yellow mosaic virus (BaYMV) resistance genes derived from *Hordeum vulgare* L. *Theor Appl Genet* 124, 577-583.
- LÜPKEN T, STEIN N, PEROVIC D, HABEKUSS A, KRÄMER I, HÄHNEL U, STEUERNAGEL B, SCHOLZ U, ZHOU R, ARIYADASA R, TAUDIEN S, PLATZER M, MARTIS M, MAYER K, FRIEDT W, ORDON F, 2013: Genomics based high resolution mapping of the BaMMV/BaYMV resistance gene *rym11* in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet*, in press.
- MAYER KFX, MARTIS M, HEDLEY PE, KIMKOVÁ H, LIU H, MORRIS JA, STEUERNAGEL B, TAUDIEN S, ROESSNER S, GUNDLACH H, KUBALÁKOVÁ M, SUCHÁNKOVÁ P, MURAT F, FELDER M, NUSSBAUMER T, GRANER A, SALSE J, ENDO T, SAKAI H, TANAKA T, ITOH T, SATO K, PLATZER M,

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institute, Institute for Resistance Research and Stress Tolerance, Erwin-Baur-Straße 27, D-06484 Quedlinburg

\* Corresponding author: Frank ORDON, frank.ordon@jki.bund.de

- MATSUMOTO T, SCHOLZ U, DOLEQEL J, WAUGH R, STEIN N, 2011: Unlocking the barley genome by chromosomal and comparative genomics. *Plant Cell* 23, 1249-1263.
- NIKS RE, HABEKUSS A, BEKELE B, ORDON F, 2004: A novel major gene on chromosome 6H for resistance to barley against the barley yellow dwarf virus. *Theor Appl Genet* 109, 1536-1543.
- ORDON F, HABEKUSS A, KASTIRR U, RABENSTEIN F, KÜHNE T, 2009: Virus resistance in cereals: Sources of resistance, genetics and breeding. *J Phytopathol* 157, 535-554.
- PALLOIX A, ORDON F, 2011: Advanced breeding for virus resistance in plants. In: CARANTA C, ARANDA MA, TEPFER M, LÓPEZ-MOYA JJ (Eds.), *Recent advances in plant virology*, 195-218. Caister Academic Press, Norfolk.
- PEROVIC D, FÖRSTER J, DEVAUX P, HARIRI D, GUILLEROUX M, KANYUKA K, LYONS R, WEYEN J, FEUERHELM D, KASTIRR U, SOURDILLE P, RÖDER M, ORDON F, 2009: Mapping and diagnostic marker development for *Soil-borne cereal mosaic virus* resistance in bread wheat. *Mol Breed* 23, 641-653.
- RIEDEL C, HABEKUSS A, SCHLIEPHAKE E, NIKS R, BROER I, ORDON F, 2011: Pyramiding of *Ryd2* and *Ryd3* conferring tolerance to a German isolate of *Barley yellow dwarf virus* (BYDV-PAV-ASL-1) leads to quantitative resistance against this isolate. *Theor Appl Genet* 123, 69-76.
- SCHEURER KS, FRIEDT W, HUTH W, WAUGH R, ORDON F, 2001: QTL analysis of tolerance to a German strain of BYDV-PAV in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theor Appl Genet* 103, 1074-1083.
- SCHLIEPHAKE E, HABEKUSS A, SCHOLZ M, ORDON F, 2013: Barley yellow dwarf virus transmission and feeding behaviour of *Rhopalosiphum padi* on *Hordeum bulbosum* clones. *Entomol Exp Appl* 146, 347-356.
- SCHOLZ M, RUGE-WEHLING B, HABEKUSS A, SCHRADER O, PENDINEN G, FISCHER K, WEHLING P, 2009: *Ryd4<sup>ib</sup>*: a novel resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus. *Theor Appl Genet* 119, 837-849.
- STEIN N, PEROVIC D, KUMLEHN J, PELLIO B, STRACKE S, STRENG S, ORDON F, GRANER A, 2005: The eukaryotic translation initiation factor 4E confers multiallelic recessive Bymovirus resistance in *Hordeum vulgare* (L.). *Plant J* 42, 912-922.
- STRACKE S, STEIN N, PRESTERL T, PEROVIC D, ORDON F, GRANER A, 2007: Effects of introgression and recombination on haplotype structure and linkage disequilibrium surrounding the locus for Bymovirus resistance Hv-eIF4E in barley. *Genetics* 175, 805-817.
- TOOJINDA T, BROERS LH, CHEN XM, HAYES PM, KLEINHOF S, KORTE J, KUDRNA D, LEUNG H, LINE RF, POWELL W, RAMSAY L, VIVAR H, WAUGH R, 2000: Mapping quantitative and qualitative disease resistance genes in a doubled haploid population of barley (*Hordeum vulgare*). *Theor Appl Genet* 101, 580-589.
- WERNER K, FRIEDT W, ORDON F, 2005: Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). *Mol Breed* 16, 45-55.

# Die Übertragung einer hochwirksamen Resistenz gegenüber BYDV aus *Hordeum bulbosum* für die Gersteszüchtung

## Introgression of an effective resistance against BYDV from *Hordeum bulbosum* to cultivated barley

Brigitte Ruge-Wehling<sup>1\*</sup>, Janine Wojacki<sup>1</sup>, Kristin Fischer<sup>1</sup>, Björn Rotter<sup>2</sup> und Peter Wehling<sup>1</sup>

### Abstract

Barley yellow dwarf virus (BYDV) causes high yield losses worldwide. Thereby aphids play an important role as virus vectors. Yield losses caused by BYDV may be reduced using virus-tolerance genes from the primary genepool of barley. Additionally, complete resistance to the virus was introgressed from the secondary genepool via interspecific crosses with the tetraploid wild species *Hordeum bulbosum* (*Hb*). Previous studies indicate that this resistance was introgressed to barley chromosome 3HL and is governed by a dominant gene, *Ryd4<sup>Hb</sup>*. In the present study, a BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> mapping population consisting of 140 individuals was used to establish a molecular-marker map for *Ryd4<sup>Hb</sup>*. To develop molecular markers specific for the introgressed *Hb* segment, three strategies are applied: (i) using anchor markers from the barley genome, (ii) exploiting the orthology of parts of the *Hordeum* genome and the model genome of *Oryza sativa*, and (iii) performing Massive Analysis of cDNA Ends (MACE). Taken together, the approaches provide a potential of approximately 200 markers for the 3HL introgression. So far, 25 markers were mapped on 3HL including ten MACE markers. Three MACE markers are located with a distance of 0.1 to 0.5 cM to *Ryd4<sup>Hb</sup>* and are of potential use for marker-assisted breeding programmes.

### Keywords

Genetic mapping, *Hordeum vulgare*, molecular markers, virus resistance

### Einleitung

Eine der bedeutendsten Krankheiten im Wintergersteanbau ist das Gelbverzwergungsvirus (BYDV), welches zu hohen Ertragsverlusten führen kann (LISTER und RANIERI 1995). Das zur Gattung der Luteoviren zählende Virus wird durch Vektoren, am häufigsten durch die Haferblattlaus (*Rhopalosiphum padi*), auf die Gerstepflanzen übertragen. Vor dem Hintergrund des sich vollziehenden Klimawandels ist mit einer wachsenden Bedeutung der Krankheit zu rechnen, weil mit zunehmend warmen Frühwintern ein verstärktes Auftreten der Vektoren zu erwarten ist.

Im aktuellen Getreidesortiment gibt es keine Resistenz, sondern lediglich Toleranz gegenüber BYDV. Die Toleranz vermittelnden Gene *ryd1* (SUNESON 1955), *Ryd2* (SCHALLER et al. 1963) und *Ryd3* (NIKS et al. 2004) wurden in der Sorte 'Rojo' sowie in einer äthiopischen Landrasse nachgewiesen. Die Toleranzreaktionen sind stark umweltabhängig. Während *ryd1* nur eine unzureichende Wirksamkeit zeigt und daher in der Gersteszüchtung nicht genutzt wird, ist *Ryd2* aufgrund seiner Feldtoleranz gegenüber BYDV-PAV, BYDV-MAV und BYDV-SGV (BALTENBERGER et al. 1987) in Gerstesorten eingekreuzt worden (BURNETT et al. 1995). Das kürzlich in einer äthiopischen Landrasse entdeckte Toleranz-Gen *Ryd3* mit Wirksamkeit gegenüber BYDV-PAV and -MAV erklärt 75% der phänotypischen Varianz (NIKS et al. 2004).

Die genannten Resistenzfaktoren entstammen dem primären Genpool der Gerste. Eine relativ neue Quelle zur Verbesserung des Resistenzniveaus der deutschen Wintergerstesorten stellt die Wildart *Hordeum bulbosum* dar, die den sekundären Genpool der Gerste repräsentiert. Aus dem sekundären Genpool wurden unter anderen zwei neue Resistenzgene gegenüber dem Gelbmosaikviruskomplex (BaMMV, BaYMV-1, -2) aus *H. bulbosum* (*Hb*) markergestützt in die Kulturgerste übertragen (RUGE et al. 2003, RUGE-WEHLING et al. 2006). In jüngerer Vergangenheit wurde auch eine hochwirksame Resistenz gegenüber dem Gelbverzwergungsvirus aus *H. bulbosum* in die Kulturgerste übertragen. Genetische Analysen spaltender Nachkommenschaften zeigten, dass diese Resistenz durch ein dominantes Majorgen vererbt wird (SCHOLZ et al. 2009).

Das Ziel unserer weiteren Arbeiten ist es, das auf dem Gerstechromosom 3HL introgressierte *Hb*-Segment mit molekularen Markern abzudecken, durch die markergestützte Identifizierung von Rekombinanten dieses Segment zu verkleinern und *Ryd4<sup>Hb</sup>*-Selektionsmarker für die Resistenzzüchtung zur Verfügung zu stellen.

### Material und Methoden

#### *Pflanzenmaterial und Kartierungspopulation*

Die Charakterisierung des Resistenzgens *Ryd4<sup>Hb</sup>* erfolgte anhand von Kreuzungsnachkommenschaften, die durch eine

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, Rudolf-Schick-Platz 3a, D-18190 GROSS LÜSEWITZ

<sup>2</sup> GenXPro GmbH, Altenhöfer Allee, D-60438 FRANKFURT AM MAIN

\* Ansprechpartner: Brigitte RUGE-WEHLING, brigitte.ruge-wehling@jki.bund.de

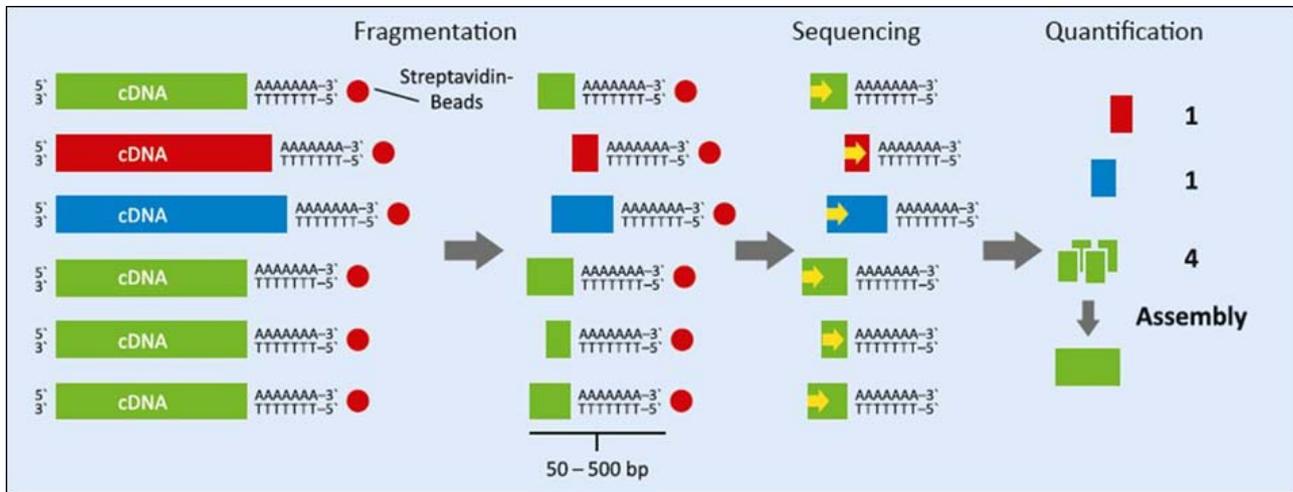
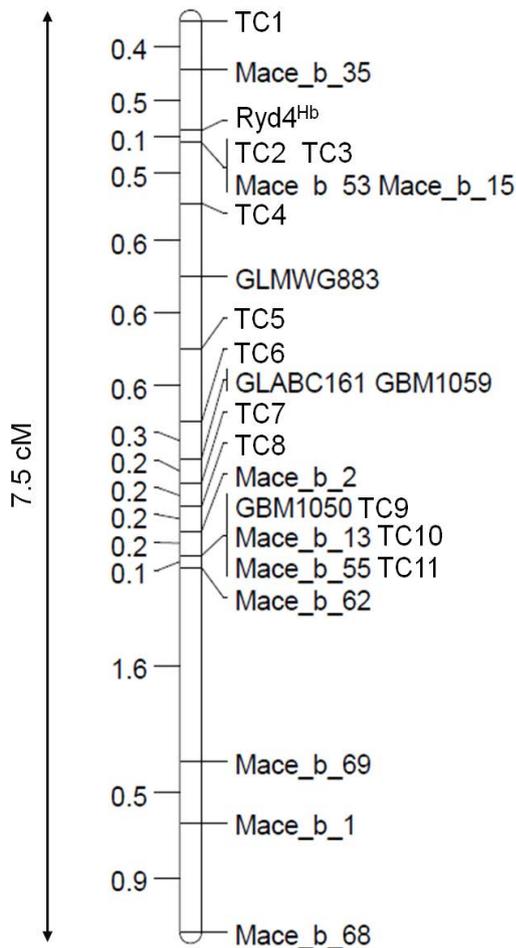


Abbildung 1: MACE-Technologie (GenXPro GmbH)

Figure 1: MACE technology (GenXPro GmbH)

Abbildung 2: Kartierung des Resistenzgens *Ryd4<sup>Hb</sup>* auf dem Gerstechromosom 3HL (TC1-11: Tentative Consensus Marker; *Mace\_b\_1*-*Mace\_b\_68*: Marker auf Basis von MACE-Sequenzen)Figure 2: Mapping of *Ryd4<sup>Hb</sup>* on the barley chromosome 3HL (TC1-11: Tentative Consensus Marker; *Mace\_b\_1*-*Mace\_b\_68*: marker based on MACE sequences)

interspezifische Kreuzung von *H. vulgare* cv. 'Igri' (Hv) mit der BYDV-resistenten Akzession A17 der Wildgerste *H. bulbosum* (Hb, Herkunft: Botanischer Garten Montevideo, Uruguay) entstanden sind (SCHOLZ et al. 2008). Durch Rückkreuzungen mit Hv und mehrere Selbstungsgenerationen wurde eine BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> (Vollgeschwisterfamilie, N = 143 Individuen) erstellt.

### Molekulare Marker

Insgesamt wurden 31 EST-basierte 3HL-Gerste-SSR-Marker (STEIN et al. 2007, VARSHNEY et al. 2007), 5 STS-Marker (GrainGenes 2.0) sowie 51 aus dem orthologen Reisgenom abgeleitete TC-Marker (STEIN et al. 2007) auf Marker-Polymorphismus zwischen *H. vulgare* und *H. bulbosum* gescreent. Der Nachweis der Orthologie zum Reischromosom R1 erfolgte durch die BLAST-Analyse (<http://compbio.dfci.harvard.edu/tgi/cgi-bin/tgi/Blast/index.cgi>) des auf der 3HL-Introgression lokalisierten EST-Markers *ABC161*. Die daraus resultierende physikalische Position von 40.43 Mbp auf R1 ermöglichte die Entwicklung weiterer, im distalen Bereich von 3HL lokalisierter TC-Marker. Die Entwicklung von MACE-Markern erfolgte auf Basis der von GenXPro entwickelten Methode. Für dieses Experiment wurden resistente und anfällige Gerstepflanzen mit Hilfe von virustragenden Läusen inokuliert und nach 1 h bis 24 h nach der Inokulation Blattmaterial für die RNA-Isolation und cDNA-Synthese entnommen. Die cDNA wurde anschließend fragmentiert. Die Fragmente, welche das poly-A 3'-Ende der cDNA enthalten, wurden über Biotin-Streptavidin fixiert und 94 Basenpaare des 5'-Endes der 100-500 bp Fragmente mittels Illumina HiSeq2000 sequenziert (Abbildung 1). Mit der MACE-Technologie wird nur das im Verhältnis zur gesamten Sequenz SNP-reiche 3'-Ende sequenziert. Aufgrund dieser Konzentration („reduzierte Komplexität der Daten“) ist die notwendige Abdeckung zur SNP-Bestimmung bereits bei geringerer Sequenziertiefe erreicht. Die sequenzierten Bereiche („Tags“) wurden auf das Vorhandensein von solchen SNPs gescreent, die als Punktmutation zwischen dem *H. bulbosum*- und *H. vulgare*-Genom auftreten, und somit als genetische Marker verwendet werden können. Das Prim-

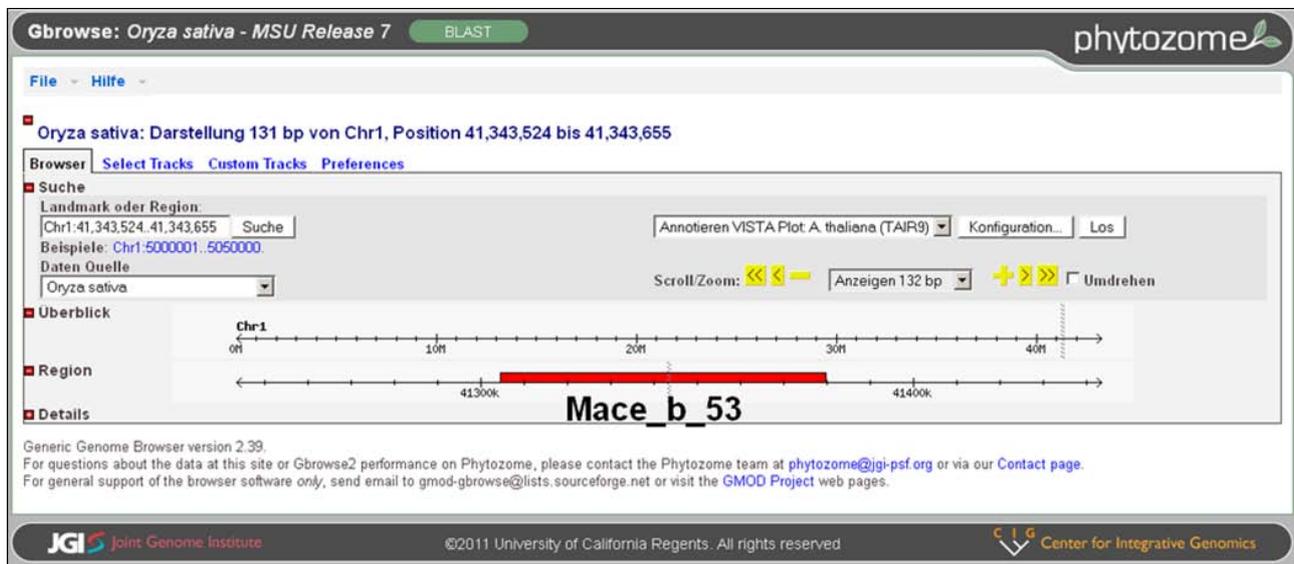


Abbildung 3: *In silico*-Kartierung des MACE-Markers *Mace\_b\_53* im Reischromosom R1

Figure 3: *In silico* mapping of MACE marker *Mace\_b\_53* on R1

erdesign für die Markerentwicklung erfolgte mit Hilfe der Software Primer 3.0 Plus (UNTERGASSER et al. 2012). Die Kopplungsanalyse wurde mit der Software JoinMap® 4.1 durchgeführt (VAN OOIJEN 2012).

Die PCR zur Darstellung der Marker wurde mit 50-100 ng genomischer DNA durchgeführt. Die Prä-PCR-Reaktion enthielt 1×Reaction Puffer (Qiagen), 200 µM dNTPs, 5 pmol Primer und 0,5 U Taq DNA-Polymerase (Qiagen). Die PCR-Produkte wurden in 2,5%-Agarosegelen mit anschließender Ethidiumbromid-Färbung oder in 10%-Polyacrylamidgelen mit anschließender Silbernitrat-Färbung nach BUDOWLE et al. (1991) aufgetrennt.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Phänotypisierungsdaten einer BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub>-Kartierungspopulation wurden bereits von SCHOLZ et al. (2009) publiziert. Die monogen dominant vererbte Resistenz ist auf einer *H. bulbosum*-Introgression lokalisiert, die durch genomische *in situ*-Hybridisierung (GISH) dem Gerstechromosom 3HL zugeordnet wurde (SCHOLZ et al. 2009). Die Lokalisation der Introgression auf diesem Chromosomenarm konnte durch die enge Kopplung des Resistenzgens *Ryd4<sup>Hb</sup>* mit den 3HL-SSR-Ankermarkern *GBM1050* und *GBM1059*, sowie den STS-Markern *ABC161* und *MWG883* bestätigt werden (Abbildung 2).

Die Lokalisation dieser Marker in den experimentellen Familien stimmt mit der in der Literatur beschriebenen Positionen der Marker auf 3HL gut überein (STEIN et al. 2007, VARSHNEY et al. 2007). Die genetischen Positionen der TC-Marker stimmt gut mit der physikalischen Karte von Chromosom R1 überein (nicht gezeigt).

Die MACE-Sequenzdaten enthielten 800 *H. bulbosum* spezifische SNPs, die 395 Contigs zugeordnet werden konnten. Die Sequenzen wurden durch eine BLAST-Analyse (<http://www.phytozome.net/>) auf ihre Orthologie zum Reisgenom überprüft (Abbildung 3) und nach dem Design geeigneter

Primer auf Polymorphismus zwischen *H. bulbosum* und *H. vulgare* untersucht. Bisher wurden 30 polymorphe Marker entwickelt und davon zehn in der BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub>-Familie genotypisiert. Die Kopplungsanalyse bestätigt die Lokalisation sämtlicher Marker auf der *H. bulbosum* Introgression auf dem Gerstechromosom 3HL. Das Markerintervall um den Resistenzlocus beträgt 0,6 cM. Die mit 0,1 cM distal von *Ryd4Hb* lokalisierten TC- und MACE-Marker sowie der proximal gelegene Marker *Mace\_b\_35* (0,5 cM) sind aufgrund ihrer engen Kopplung zum Resistenzgen gut als Selektionsmarker einsetzbar.

Eine hochauflösende Kartierung der neuen Introgressionsmarker ermöglicht präzise Aussagen über die Distanzen der Marker zum Zielgen und ihre Eignung als Selektionsmarker, da häufig bei Pflanzen mit translozierten Chromosomensegmenten aus einer verwandten Art eine stark unterdrückte Rekombinationsfrequenz in diesem Genombereich auftritt. Zur Zeit werden ca. 1000 Individuen im Hinblick auf ihren Resistenzphänotyp charakterisiert und mit ca. 100 *H. bulbosum* spezifischen SNP-Markern genotypisiert. Rekombinante Genotypen mit verkleinerter Introgression werden selektiert und in Kombination mit geeigneten Selektionsmarkern für die Resistenzzüchtung zur Verfügung gestellt.

## Danksagung

Das Projekt wurde im Rahmen des BMELV-Programms zur Innovationsförderung (Förderkennzeichen: 28-1-45.019-10) unterstützt.

## Literatur

- BALTENBERGER DE, OHM HW, FOSTER JE, 1987: Reactions of oat, wheat and barley to infection with BYDV isolates. *Crop Sci* 27, 195-198.
- BUDOWLE B, CHAKRABORTY R, GIUSTI AM, EISENBERG AJ, ALLEN RC, 1991: Analysis of VNTR locus D1S80 by the PCR followed by high resolution PAGE. *Am J Hum Genet* 48, 137-144.

- BURNETT PA, COMEAU A, QUALSET CO, 1995: Host plant tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf. In: D'ARCY CJ, BURNETT PA (Eds.), Barley yellow dwarf: 40 years of progress, 321-343. APS Press, St. Paul.
- LISTER MR, RANIERI R, 1995: Distribution and economic importance of barley yellow dwarf. In: D'ARCY CJ, BURNETT PA (Eds.), Barley yellow dwarf: 40 years of progress, 29-53. APS Press, St. Paul.
- NIKS RE, HABEKUSS A, BEKELE B, ORDON F, 2004: A novel major gene on chromosome 6H for resistance of barley against the barley yellow dwarf virus. Theor Appl Genet 109, 1536-1543.
- RUGE B, LINZA, PICKERING R, PROESELER G, GREIF P, WEHLING P, 2003: Mapping of *Rym14<sup>th</sup>*, a gene introgressed from *Hordeum bulbosum* and conferring resistance to BaMMV and BaYMV in barley. Theor Appl Genet 107, 965-971.
- RUGE-WEHLING B, LINZ A, HABEKUSS A, WEHLING P, 2006: Mapping of *Rym16<sup>th</sup>*, the second soil-borne virus-resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum*. Theor Appl Genet 113, 867-873.
- SCHALLER CW, RASMUSSEN DC, QUALSET CO, 1963: Sources of resistance to the yellow-dwarf virus in barley. Crop Sci 3, 342-344.
- SCHOLZ M, RUGE-WEHLING B, HABEKUSS A, PENDINEN G, SCHRADER O, FLATH K, GROSSE E, WEHLING P, 2008: The secondary gene pool of barley as gene donor for crop improvement. In: MAXTED N, FORD-LLOYD BV, KELL SP, IRIONDO J, DULLOO E, TUROK J (Eds.), Crop wild relative conservation and use, 549-555. CAB Int Publ, Wallingford.
- SCHOLZ M, RUGE-WEHLING B, SCHRADER O, HABEKUSS A, PENDINEN G, FISCHER K, WEHLING P, 2009: *Ryd4<sup>th</sup>*, a novel resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV). Theor Appl Genet 119, 837-849.
- STEIN N, PRASAD M, SCHOLZ U, THIEL T, ZHANG H, WOLF M, KOTA R, VARSHNEY RK, PEROVIC D, GROSSE I, GRANER A, 2007: A 1,000-loci transcript map of the barley genome: new anchoring points for integrative grass genomics. Theor Appl Genet 114, 823-839.
- SUNESON CA, 1955: Breeding for resistance to yellow dwarf virus in barley. Agron J 47, 283.
- UNTERGASSER A, CUTCUTACHE I, KORESSAAR T, YE J, FAIRCLOTH BC, REMM M, ROZEN SG, 2012: Primer3 - new capabilities and interfaces. Nucl Acid Res 40, e115.
- VAN OOIJEN JW, 2012: JoinMap® 4.1 software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations of diploid species. Kyazama BV, Wageningen.
- VARSHNEY RK, MARCEL TC, RAMSAY L, RUSSELL J, RÖDER MS, STEIN N, WAUGH R, LANGRIDGE P, NIKS RE, GRANER A, 2007: A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. Theor Appl Genet 114, 1091-1103.

---

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

# Resistenzzüchtung beim Steirischen Ölkürbis

## Resistance breeding in Styrian oil pumpkin

Martin Pachner<sup>1\*</sup>, Johanna Winkler<sup>2</sup> und Tamas Lelley<sup>1</sup>

### Abstract

An epidemic with zucchini yellow mosaic virus (ZYMV) in 1997 showed that the Austrian oil pumpkin (*Cucurbita pepo*) varieties possessed no genetically conditioned resistance to the virus. We started crossing oil pumpkin with American and Israeli zucchini varieties which carry resistance genes from the tropical pumpkin *C. moschata*. In *C. moschata* we had identified seven different resistance genes against ZYMV. We transferred some of these genes by bridge crossings with zucchini, into oil pumpkin. In a pyramiding programme we combined five resistance genes in one oil pumpkin genotype. Later fruit rot, mainly caused by the fungus *Didymella*, led to considerable crop failures. This pathogen could be counteracted by a genetically conditioned harder fruit rind. Furthermore, we observed regularly infestations with cucumber mosaic virus (CMV) which, however, up to now did not reach a yield reducing level. We have identified resistance genes against CMV in zucchini and transferred them into oil pumpkin. Future varieties will be equipped with combined ZYMV/CMV resistance. We were also able to improve tolerance against powdery mildew, which can pose a problem when it appears too early. During the past 15 years resistances to ZYMV, fruit rot, CMV and powdery mildew were introduced into the breeding programme of Saatzucht Gleisdorf within the scope of several research projects. Leaf diseases caused by fungal and bacterial pathogens, which find increasingly more favourable conditions through global warming, pose the future challenges in resistance breeding in oil pumpkin.

### Keywords

*Cucurbita pepo*, cucumber mosaic virus, fruit rot, zucchini yellow mosaic virus

### Einleitung

Die katastrophale Virusepidemie mit Zucchini-Gelbmosaikvirus (ZYMV) im Steirischen Ölkürbis-Anbau im Jahr 1997 mit Erntausfällen bis zu 50% (RIEDLE-BAUER 1998) markiert den Startpunkt für eine Reihe von Forschungsprojekten und damit verbundenen Züchtungsarbeiten am

Steirischen Ölkürbis (*Cucurbita pepo*). Gegen ZYMV gibt es mittlerweile eine Reihe von Resistenzgenen, welche auch in den neu zugelassenen Ölkürbissorten Anwendung gefunden haben.

Eine weitere große Bedrohung für den Steirischen Ölkürbis zeigte sich im verstärkten Auftreten von Beständen, die mit Fruchtfäule befallen waren. Nachdem die Ursache nicht gleich eindeutig festgestellt werden konnte, verschiedene bakterielle und pilzliche Schaderreger wurden nachgewiesen, konzentrierten wir uns darauf, die Fruchtschale des Ölkürbis mit einem besseren Schutz auszustatten. Durch Einkreuzung von hartschaligen Genotypen bietet die ursprünglich sehr weiche Fruchtschale nun einen besseren Widerstand gegen eindringende Schaderreger. Schließlich wurden der Pilz *Didymella* und das Bakterium *Erwinia* als Hauptverursacher der Fruchtfäule beim Steirischen Ölkürbis nachgewiesen (HUSS et al. 2007, HUSS 2009).

Die nächsten Bedrohungen für den Ölkürbis stehen aber schon in den Startlöchern. So werden immer häufiger Befälle mit Gurkenmosaikvirus (CMV) und Blattkrankheiten beobachtet.

Wir fassen in diesem Bericht die Ergebnisse von 15 Jahren Resistenzzüchtung zusammen und werfen einen Blick auf die zukünftigen Herausforderungen der Ölkürbiszüchtung.

### Material und Methoden

Als Ölkürbis-Ausgangsmaterial verwendeten wir die beiden traditionellen österreichischen Sorten 'Gleisdorfer Ölkürbis' und 'Retzer Gold'. Die ZYMV-toleranten amerikanischen Zucchini-Sorten 'Tigress', 'Jaguar' und 'Puma', sowie die für die Erhöhung der Fruchtschalenhärte verwendete Halloweenkürbissorte 'Lil Ironsides' und die CMV-resistente Zuchinisorte 'Linda' stammen von der Fa. Harris Moran Seed Company, Davis California. Die ZYMV-resistenten Zuchinisorten 'Dividend' und 'Revenue' stammen von Novartis Seeds, Inc. Naples, Florida. Die auf ZYMV-Resistenz selektierten *C. moschata* Landrassen 'Menina 15' aus Portugal und 'Nigerian Local' aus Afrika wurden uns von M. Pitrat (INRA, Frankreich), 'Soler' aus Puerto Rico von Linda Wessel-Beaver (Univ. Puerto Rico) zur Verfügung gestellt. Die ZYMV-anfällige *C. moschata*-Sorte 'Waltham Butternut' und die für die Artkreuzungen *C. pepo* × *C. mo-*

<sup>1</sup> Universität für Bodenkultur Wien, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Abt. Pflanzenzüchtung, Konrad Lorenz Straße 24, A-3430 TULLN

<sup>2</sup> Saatzucht Gleisdorf, Am Tieberhof 33, A-8200 GLEISDORF

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

*schata* verwendete Brücke, die israelische Zucchini Linie 381e, erhielten wir von H. S. Paris (Newe Ya'ar Research Center, Israel). Diese Linie enthält drei Resistenzgene, ein dominantes Hauptgen (*Zym-1*) und zwei Modifikatorgene (*Zym-2* und *Zym-3*) gegen ZYMV aus der portugiesischen Landrasse Menina, die in die Zucchini-Sorte 'True French' übertragen wurden (PARIS und COHEN 2000).

Für künstliche Virusinfektionstests wurden die Pflanzen im Glashaus unter kontrollierten Bedingungen (23-25°C Tag, 20-22°C Nacht, 50-70% RF, Zusatzbelichtung mit Metallampfen für 14 h pro Tag) gehalten. Für die ZYMV-Infektionen verwendeten wir ein Mischisolat, das aus mehreren Einzelisolaten, die an verschiedenen österreichischen Standorten gesammelt wurden, zusammengefügt war (RIEDLE-BAUER 1998). Für die CMV-Infektionen verwendeten wir ein Isolat, das aus Fruchtfleisch von in der Steiermark gesammelten Kürbissen stammt, welches wir auf Tabakpflanzen, die nicht anfällig für ZYMV sind, isoliert haben. Das Homogenat wurde, kurz vor der Infektion, aus gefrorenen infizierten Blättern, mit 1% K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> Lösung als Inokulationspuffer, und Celite® 545 in einem Mörser auf Eis hergestellt. Die Infektionen erfolgten bei ZYMV durch Aufreiben des Homogenats zunächst auf die beiden Keimblätter und 3 Tage später auf das erste Laubblatt. Bei CMV-Inokulationen wurde nur das dritte Laubblatt behandelt. Die Symptome wurden 10 bzw. 24 Tage nach Infektion ausgewertet. Zur Klassifizierung der Pflanzen als resistent oder anfällig verwendeten wir eine Skala von 0 bis 9, wobei 0 als nicht infiziert, 1 bis 4 als tolerant und 6 bis 9 als anfällig bewertet wurde. Die Bonitur 5 stellt eine nicht eindeutig zuordenbare Übergangssituation dar. Es soll festgehalten werden, nachdem die Grenze zwischen Resistenz und Toleranz nicht klar definierbar ist, dass wir von leichter bis hin zu tolerabler Symptomausprägung von einer Resistenz sprechen.

Für die Markeranalysen wurde in mehreren Bulk-SEGREGANT Analysen eine Sammlung von über 700 *Cucurbita* spezifischen SSR-Markern, die im Rahmen eines FWF-Projektes an unserem Institut entwickelt wurden (GONG et al. 2008), getestet.

## Ergebnisse und Diskussion

### Zucchini-Gelbmosaikvirusresistenz

Die ZYMV-Resistenzen haben wir zuerst aus mehreren amerikanischen bzw. einer israelischen Zuchinisorte in Ölkürbis eingekreuzt. Alle Resistenzgene stammen aus der Art *C. moschata*. Die Ausprägung von Reaktionssymptomen war jedoch nach künstlicher Infektion mit unserem ZYMV-Isolat bei den unterschiedlichen Genotypen klar unterscheidbar. Diese Tatsache veranlasste uns dazu, die genetische Struktur dieser Resistenzen in *C. moschata* zu untersuchen, aber auch um eventuell weitere Resistenzgene in *C. moschata* zu finden. Letztendlich fanden wir in *C. moschata* sieben Resistenzgene (PACHNER et al. 2011). Wir haben danach alle von uns identifizierten Resistenzen aus *C. moschata* in Ölkürbis eingekreuzt. Da sich Ölkürbis nicht direkt mit *C. moschata* kreuzen lässt, mussten wir Brückenkreuzung mit Zucchini durchführen. Nach jeweils 2-3 Rückkreuzungen

und darauf folgend mehreren Selbstungen haben wir die verschiedenen ZYMV-Resistenzgene von homogenen Nachkommenschaften in einem Pyramiding-Programm zu unterschiedlichen Kombinationen zusammengeführt. Die Ergebnisse dazu wurden bei der 59. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2008 präsentiert (PACHNER und LELLEY 2009). Zusammenfassend sei hier erwähnt, dass die Untersuchungen zeigten, dass die Kombination mehrerer ZYMV-Resistenzgene in Ölkürbis einen additiven Effekt hat. Während Ölkürbislinien mit nur einem Resistenzgen einen mittleren Boniturwert von 4,5 haben, erreichen Genotypen mit vierfacher Resistenz die Durchschnittsnote von 1,5.

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

### Fruchtfäuleresistenz

Als Hauptverursacher der Fruchtfäule beim Steirischen Ölkürbis wurde der Pilz *Didymella bryoniae* nachgewiesen (HUSS et al. 2007). Der Pilz ist weltweit von den tropischen bis zu den temperierten Regionen verbreitet und befällt neben zahlreichen Kürbisgewächsen auch die Sonnenblume und verursacht dort eine Stängelfäule. An Früchten konnte hauptsächlich die Nebenfruchtform (*Phoma cucurbitacearum*) nachgewiesen werden. Diese wird überwiegend durch Regen verbreitet. Auch andere Pilze, wie *Sclerotinia* und *Fusarium*, wurden in gefaulten Früchten nachgewiesen, tragen aber insgesamt nur gering zum Anteil gefaulter Früchte bei. Eine weitaus wichtigere Rolle spielt das Bakterium *Erwinia carotovorum*, das 2008 erstmals größere Schäden verursachte (HUSS 2009). Verletzungen und Infektionsstellen von *Didymella* an den Früchten, sowie regenreiche Sommer begünstigen den Befall mit diesem Bakterium.

Es wird angenommen, dass die weiche Fruchtschale der Kürbisgewächse durch Selektion nach Domestikation entstand. Die harte Fruchtschale diente der Wildform demnach als Schutz gegen Verbiss und Eindringen von Krankheitserregern. Beim Ölkürbis wurden scheinbar wegen der leichteren händischen Ernte der Samen, weichschalige Früchte bevorzugt und somit unbewusst für Fäulnis anfälligere Genotypen selektiert. Für die heutige fast ausschließlich maschinelle Ernte stellt jedoch eine etwas härtere Fruchtschale kein Hindernis dar. Die Fruchtschalenhärte von *C. pepo* wurde in der Literatur als ein Merkmal beschrieben, das von einem dominanten Einzelgen (Hr für hard rind) determiniert wird (MAINS 1950, loc. cit. SCHAFFER et al. 1986). Wie wir festgestellt haben, dürfte jedoch die Fruchtschalenhärte eine komplexere Vererbung, als bisher angenommen, haben. Untersuchungen haben gezeigt, dass die lignifizierte Fruchtwand mehr oder weniger längliche bis kugelförmige Kieselsäureeinlagerungen, so genannte Phytolithe, enthält (PIPERNO et al. 2002). Phytolithen bieten der Pflanze sowohl Festigkeit als auch Elastizität und, wie viele Publikationen belegen, Schutz gegen biotische Stressfaktoren, wie pilz-

lichen oder bakteriellen Befall (siehe Zusammenfassung bei EPSTEIN 1994). Dies bietet die Möglichkeit, durch eine genetische Beeinflussung die Fruchtschalenhärte weichschaliger Genotypen anzuheben und einen möglichen Schutzmechanismus gegen Fruchtfäule aufzubauen.

Das verwendete Versuchsmaterial entstand aus der Kreuzung der Sorte 'Lil Ironsides', ein hartschaliger Halloweenkürbis, mit einer weichschaligen Ölkürbiszuchtlinie der Saatzucht Gleisdorf. Obwohl die harte Fruchtschale in den meisten Fällen einer spaltenden  $F_2$ -Population mit verholzter Samenschale korreliert, und auch in den wenigen schalenlosen Selbstungsnachkommenschaften eine härtere Fruchtschale nicht stabilisiert werden konnte, ist es uns in den Rückkreuzungen mit Ölkürbis gelungen, in bestimmten Linien der  $BC_2F_5$  bzw.  $BC_3F_5$ , die härtere Fruchtschale auf einem mittleren Niveau zu stabilisieren. Die in der Literatur angegebene monogene Vererbung der Rindenhärte dürfte sich im schalenlosen Ölkürbis anders verhalten. Darüber hinaus scheint der genetische Hintergrund für die Merkmalsausprägung ausschlaggebend zu sein.

Im Sommer 2007 trat im Zuchtgarten in Tulln ein starker Fruchtfäulebefall auf. Dadurch konnten wir zur Erntezeit durch Auszählen der gefaulten Früchte das Verhältnis gesunder zu gefaulten Früchte in den verschiedenen Populationen bestimmen. Die Fäulnisrate bei 'Gleisdorfer Ölkürbis', durchschnittliche Härte  $5\text{--}7\text{ N}\cdot\text{mm}^{-2}$  (Kraftaufwand um einen 2,7 mm dicken Stahl Nagel mit abgeflachter Spitze durch die Fruchtschale zu drücken, 10 Newton (N) entsprechen 1,019 kg), lag bei 32%, die Fäulnisrate bei den Hardrind-Nachkommenschaften (durchschnittliche Härte bei  $10\text{--}15\text{ N}\cdot\text{mm}^{-2}$ ) war deutlich geringer, nämlich 7%. Dieses Niveau an Fruchtfäuletoleranz hat sich an auf agronomische Merkmale selektierten Hard-Rind-Ölkürbislinien in den zweiortigen Parzellenprüfungen der Saatzucht Gleisdorf 2012, einem Jahr mit sehr starkem Fäulnisdruck, bestätigt. Diese Ergebnisse bestätigen unsere Annahme, dass härtere Fruchtschale einen wirksamen Schutz gegen Fruchtfäule bieten kann. Die verwendete Quelle für die harte Fruchtrinde, 'Lil Ironsides', besitzt eine Fruchtschalenhärte von  $20\text{ N}\cdot\text{mm}^{-2}$  (entspricht 100%). Im Vergleich zu Lil Ironsides' hat der herkömmliche Ölkürbis eine Fruchtschalenhärte von nur etwa 25-35%. Das erzeugte Zuchtmaterial mit härterer Fruchtschale besitzt demnach zwischen 50-75% der Härte von 'Lil Ironsides'. Auch in der Praxis war die Ölkürbishybrid-sorten 'Diamant', welche eine etwas härtere Fruchtschale aufweist ( $8\text{--}10\text{ N}\cdot\text{mm}^{-2}$ ), eindeutig weniger von Fruchtfäule betroffen, als Sorten mit weicher Fruchtschale.

### Gurkenmosaikvirusresistenz

Im Sommer 2005 wurden erstmalig im Zuchtgarten der Saatzucht Gleisdorf Pflanzen mit starkem Befall von Gurkenmosaikvirus (CMV) gefunden. Die Beobachtungen wurden durch ELISA-Tests bestätigt. Wir haben daher sämtliche uns zur Verfügung stehenden Genotypen mit drei Virusstämmen in Infektionsversuchen getestet. Ein Vergleich der Ergebnisse zeigte, dass das österreichische Isolat (AUTI) aus den dreien das aggressivste ist. Die Symptome die durch das ungarische Isolat (HI) verursacht werden, sind halb so stark als jene von AUTI, die des französischen

Isolats (FI) sind noch ein wenig milder. Wenn man die Ergebnisse von *C. pepo* und *C. moschata* vergleicht, kann man erkennen, dass, außer gegen AUTI, die meisten der *C. moschata* Genotypen einen hohen Grad an Resistenz gegenüber CMV besitzen (PACHNER und LELLEY 2007). Leider entwickelte 'Nigerian Local' bei AUTI starke Symptome, obwohl diese Landrasse als die beste Resistenzquelle gegen viele Viruserkrankungen gilt (BROWN et. al. 2003). Ein ähnliches Ergebnis erzielten wir mit 'Menina', welche eine sehr hohe Resistenz gegen ZYMV besitzt. Lediglich 'Zhou', ein schalenloser *C. moschata* aus China, und 'Soler' aus Puerto Rico scheinen Resistenz gegen CMV AUTI zu besitzen. Alle *C. pepo* Genotypen, inklusive 'Linda', eine als CMV resistent beschriebene amerikanische Zucchini-sorten, zeigten hohe Anfälligkeit.

Das bereits vorhandene Ölkürbis-Zuchtmaterial aus den diversen Artkreuzungen wurde in Infektionsversuchen mit CMV auf mögliche Resistenzen überprüft. Alle potentiellen Genotypen erwiesen sich jedoch als anfällig für das österreichische Isolat von CMV. Allerdings hat die Selbstung der Zucchini-sorten 'Linda', eine  $F_1$ -Hybride, eine spaltende  $F_2$ -Population erbracht. Die Spaltung deutete auf ein rezessives Gen für die CMV-Toleranz in dieser Sorte hin. Mit homozygoten 'Linda'  $F_2$ -Pflanzen und einer weiteren neuen resistenten Zucchini-sorten wurde ein Rückkreuzungsprogramm mit Ölkürbis gestartet. Das Zuchtmaterial ist noch nicht homogen, aber es konnten bereits molekulare Marker, die mit der CMV-Resistenz gekoppelt sind, identifiziert werden. Künftige Sorten sollen mit kombinierter ZYMV/CMV-Resistenz ausgestattet werden.

### Mehltauresistenz

Echter Mehltau (*Sphaerotheca fuliginea*), der in der Regel als Abreifebeschleuniger angesehen wird, kann, wenn er zu früh auftritt, ein Problem darstellen. Es fehlt dann die nötige Blattmasse, um Assimilate in den Kernen einzulagern. Eine verbesserte Toleranz konnte durch die Einkreuzung der *C. moschata* Sorte Soler erzielt werden. Sie zeigt sich dadurch, dass Genotypen mit dieser Resistenz später befallen werden und der Befall milder verläuft.

Ausgehend von einer mehlttauresistenten  $F_2$  Pflanze aus der Kreuzung *C. moschata* 'Soler' mit einem Zucchini (*C. pepo*) wurden mehrere Rückkreuzungen mit Ölkürbis erstellt. Die Pflanzen wurden jeweils in den Sommergenerationen bezüglich ihrer Mehltautoleranz, unter natürlichen Infektionsbedingungen, selektiert. Die toleranten Genotypen weisen eine homogene Mehltautoleranz unter Feldbedingungen auf, das bedeutet 1-2 Wochen späterer Befallsbeginn und um 1-2 Boniturnoten schwächere Ausprägung des Befalls. Damit haben die Früchte zwei bis drei Wochen mehr Zeit um Assimilate für die Samenentwicklung einzulagern.

### Herausforderungen der Zukunft

Die zukünftigen Herausforderungen in der Resistenzzüchtung beim Ölkürbis stellen vor allem Blattwelkekrankheiten dar. Pilzliche und bakterielle Schaderreger finden durch die Klimaveränderung zunehmend günstigere Bedingungen vor. Die Blattdürrekrankheit wird durch den schon von der Fruchtfäule bekannten Pilz *Didymella bryoniae* verursacht.

Durch die von diesem Pilz verursachte Fäule in den Gefäßbündeln der Blattstiele wird die Nährstoff- und Wasserzufuhr zu den Blättern unterbunden, wodurch diese verdorren. An Blättern konnten beide Fruchtformen, *Didymella* und *Phoma* nachgewiesen werden. Da die Hauptfruchtform (*Didymella*) flugfähige Sporen bildet, spielt hier auch der Wind zur Verbreitung eine große Rolle. Gleichzeitig wurde in den gefaulten Blattstielen auch das Bakterium *Pseudomonas viridiflava* nachgewiesen (HUSS 2007). Eine Studie von GRUBE et al. (2011) hat das kombinierte Agieren von *Dydymella* mit Bakterien nachgewiesen und für den raschen Anstieg der multi-pathogenen Erkrankungen von Kürbissen verantwortlich gemacht.

Die eckige Blattfleckenkrankheit ist die am meisten verbreitete Bakteriose in *Cucurbitaceen* und wird durch das weltweit verbreitete Bakterium *Pseudomonas* hervorgerufen. Das Bakterium kann mit den Samen übertragen werden oder auf Pflanzenrückständen im Boden überwintern. Die günstigsten Wachstumsbedingungen findet es in humiden und semihumiden Regionen bei 25-28°C vor. Die zuerst glasig durchscheinenden runden Blattflecken verfärben sich später braun und werden von den Blattadern eckig begrenzt. Ältere Blattflecken reißen an den Rändern ein und fallen ab. Auch an den Stängeln und Früchten sind ähnliche Symptome zu beobachten, die meist oberflächlich bestehen bleiben, aber anderen Schadorganismen Eintrittspforten bieten (Bedlan, pers. Mitt.).

## Danksagung

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

## Literatur

BROWN RN, BOLANOS-HERRERA A, MYERS JR, JAHN MM, 2003: Inheritance of resistance to four cucurbit viruses in *Cucurbita moschata*. Euphytica 129, 253-258.

- EPSTEIN E, 1994: The anomaly of silicon in plant biology (Review). Proc Natl Acad Sci USA 91, 11-17.
- GONG L, STIFT G, KOFLER R, PACHNER M, LELLEY T, 2008: Microsatellites for the genus *Cucurbita* and an SSR-based genetic linkage map of *Cucurbita pepo* L. Theor Appl Genet 117, 37-48.
- GRUBE M, FÜRNKRANZ M, ZITZENBACHER S, HUSS H, BERG G, 2011: Emerging multi-pathogen disease caused by *Dydymella bryoniae* and pathogenic bacteria on Styrian oil pumpkin. Eur J Plant Pathol 131, 539-548.
- HUSS H, WINKLER J, GREIMEL C, 2007: Fruchtfäule statt Kernöl. Der Pflanzenarzt 60 (6-7), 14-16.
- HUSS H, 2007: Blattdürre am Ölkürbis. Der Pflanzenarzt 60 (11-12), 10-11.
- HUSS H, 2009: Weiche Schale, kein Kern. Der Pflanzenarzt 62 (6-7), 14-15.
- MAINS EB, 1950: Inheritance in *Cucurbita pepo*. Papers Mich Acad Sci Arts Lett 36, 27-30.
- PACHNER M, LELLEY T, 2007: An Austrian cucumber mosaic virus isolate is causing severe symptoms on resistant *Cucurbita pepo* cultivars. Cucurbit Genet Cooperative Rep 30, 50-51.
- PACHNER M, LELLEY T, 2009: Pyramiding von Resistenzgenen gegen das Zucchini Gelbmosaikvirus in Ölkürbis (*Cucurbita pepo*). 59. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2008, 81-84.
- PACHNER M, PARIS HS, LELLEY T, 2011: Genes for resistance to zucchini yellow mosaic in tropical pumpkin. J Hered 102, 330-335.
- PARIS HS, COHEN S, 2000: Oligogenic inheritance for resistance to zucchini yellow mosaic virus in *Cucurbita pepo*. Ann Appl Biol 136, 209-214.
- PIPERNO DR, ANDRES TC, WESSEL-BEAVER L. 2002: Evidence for the control of phytolith formation in *Cucurbita* fruits by the hard rind (*Hr*) genetic locus: Archaeological and ecological implications. Proc Natl Acad Sci USA 99, 535-540.
- RIEDLE-BAUER M, 1998: Ölkürbis & Co.: Was tun gegen das Zucchini-gelbmosaikvirus? Der Pflanzenarzt 4, 1-4.
- SCHAFFER AA, BOYER CD, PARIS HS. 1986: Inheritance of rind lignification and warts in *Cucurbita pepo* L. and a role for phenylalanine ammonia lyase in their control. Z Pflanzenzüchtg 96, 147-153.
- WERNER, K, FRIEDT W, ORDON F. 2005: Strategies for pyramiding resistance genes against the barley yellow mosaic virus complex (BaMMV, BaYMV, BaYMV-2). Mol Breed 16, 45-55.

## Studies on grass viruses in Austria

Frank Rabenstein<sup>1\*</sup> and Herbert Huss<sup>2</sup>

### Abstract

Hitherto only limited information was available on viruses infecting *Poaceae* in Austria. Besides the *Barley yellow dwarf* complex only the occurrence of *Wheat dwarf virus* has been reported. In the present study some new viruses were detected: the soil-borne bymoviruses *Barley yellow mosaic virus* and *Barley mild mosaic virus* were detected on winter barley; *Brome streak mosaic virus* was isolated from *Hordeum murinum*; *Cocksfoot streak mosaic virus* and *Ryegrass mottle virus* were isolated from *Dactylis glomerata*, the latter being the first report for Central Europe. Other, yet unidentified viruses were present in wild grass species along the field edge. Further studies are necessary to identify and characterise these viruses. It can be concluded that the extent of virus infections in grasses is higher than expected and that the influence of virus infections in nature has been significantly underestimated.

### Keywords

*Arrhenatherum elatius*, cocksfoot streak mosaic virus, *Dactylis glomerata*, ryegrass mottle virus, tritimovirus

### Introduction

While several reports on virus diseases of grasses have been published during the past decade (LAPIERRE and SIGNORET 2004, PLUMB 2006), only limited information is available on viruses infecting *Poaceae* in Austria. In addition to viruses of the *Barley yellow dwarf* complex (BYDV-PAV, BYDV-MAV, CYDV-RPV) only the occurrence of *Wheat dwarf virus* (WDV) has been reported (OBERFORSTER 2003, HUSS and PLANK 2008). A range of wild and cultivated grass species can serve as hosts, however, the epidemiology and incidence of these viruses in annual and perennial grasses is largely unknown.

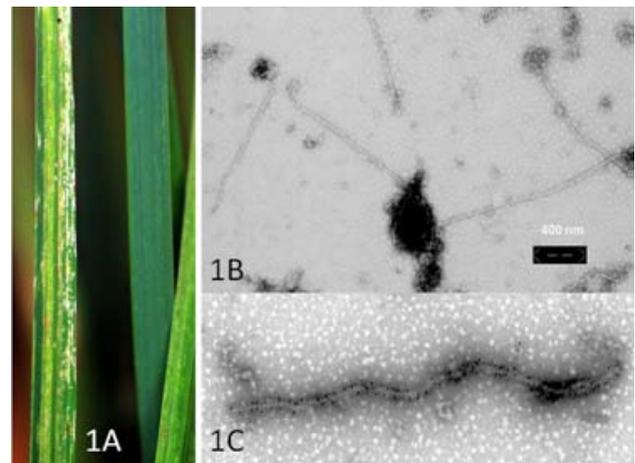
### *Wheat dwarf virus*

The differentiation of the wheat infecting WDV strain from the barley strain (*Barley dwarf virus*, BDV) is possible by direct sequencing using rolling circle amplification (SCHUBERT et al. 2007) or with a BYD specific antibody (RABENSTEIN et al. 2005). By means of a BDV specific monoclonal antibody we identified BDV in winter barley var. 'Hannelore' originating from a field in Antiesenhofen (Upper Austria). It is not known whether the WDV and BDV incidence and strain composition in wild grasses in Austria

differs from that in Germany. In a survey conducted last year in Germany we only found BDV in winter- or spring barley and at one point in loose silky bent grass (*Apera spica-venti* L. Beauv.), but never in wheat, spelt or triticale which were infected only by the WDV strain. At one point WDV was also detected in *Poa pratensis* L. and in one sample of spring barley var. 'Grace'.

### *New viruses*

The production of winter barley in Austria is now also threatened by the recently discovered soil-borne bymoviruses *Barley yellow mosaic virus* and *Barley mild mosaic virus* which are currently spreading (HUSS and RABENSTEIN 2012). On the other hand, the cultivation of barley and other cereals in Austria is obviously not endangered by a new mite-transmitted virus recently isolated from wall barley (*Hordeum murinum* L.) plants. The virus from *H. murinum* belongs to the genus *Tritimovirus* (RABENSTEIN et al. 2004) and was identified as an isolate of *Brome streak mosaic virus* (BrSkMV) which was easily transmissible by mechanical inoculation to barley, oats and some winter wheat species (RABENSTEIN et al. 2011). Although the mite species *Aceria tosichella* (Keifer [Amrine]) is an expanding pest worldwide (NAVIA et al. 2013) and a population of this mite species transmitted BrSkMV under controlled conditions (STEPHAN et al. 2008), apparently factors such



**Figure 1:** Symptoms in form of chlorotic and necrotic streaks along the leaf blade on cocksfoot plant sample StP1 (A), containing flexible elongated virus particles about 800 nm in length (B), which were decorated with gold labelled antibodies to *Cocksfoot streak mosaic virus* (C)

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut (JKI), Institut für Epidemiologie und Pathogendiagnostik, Erwin-Baur-Straße 27, D-06484 QUEDLINBURG

<sup>2</sup> LFZ Raumberg-Gumpenstein, Institut für Biologische Landwirtschaft Versuchsstation Lambach/Stadl-Paura, Gmünderstraße 9, A-4651 STADL-PAURA

\* Corresponding author: Frank RABENSTEIN, frank.rabenstein@jki.bund.de

as adjustment and specialization of the vector population on host plants and low transmission efficiency seem to prevent an effective distribution in central Europe.

Two further new viruses were isolated from cocksfoot plants (*Dactylis glomerata* L.) collected near the experimental station in Lambach/Stadl-Paura (Upper Austria). The first sample (StP1) showed chlorotic and necrotic streaks along the leaf blade (Figure 1A) and contained flexible elongated virus particles about 800 nm in length (Figure 1B). The virus was detected by ELISA and immunogold labeling with an antiserum to a recently identified tritimovirus detected in *D. glomerata* plants in Germany (Figure 1C).

The virus with the preliminary designation *Cocksfoot streak mosaic virus* (CfSMV) has a genome organization characteristic for potyviruses with a single stranded RNA consisting of 9383 nucleotides coding for a polyprotein of 3035 amino acids. The polyprotein of this new virus from cocksfoot shows the highest sequence identity to *Wheat streak mosaic virus*, the type member of the genus *Tritimovirus*. A vector for the CfSMV is unknown but, like other tritimoviruses (BrSkMV and WSMV), it is possibly transmitted by mites (RABENSTEIN et al. 2010).

The other cocksfoot sample (StP2) was representative of plants with symptoms in form of chlorotic streaks or spots on their leaves (Figure 2A). Infected plants often died completely in the field or showed heavily bleached leaves after transfer to the greenhouse. Similar symptoms appeared after mechanical inoculation of healthy cocksfoot or barley plants with infected leaf sap. Infected plants contained isometric virus particles with a diameter of about 30 nm (Figure 2B).

Plants infected with isolate StP2 reacted in ELISA with antisera to strains of *Ryegrass mottle virus* (RgMoV) isolated in 1997 from ryegrass or brome grass in Germany (RABENSTEIN et al. 1998a). In addition, the serological reactivity was confirmed by IEM decoration assays showing a clumping of virus particles with RgMoV antibodies (Figure 2C). RgMoV was first isolated from ryegrasses

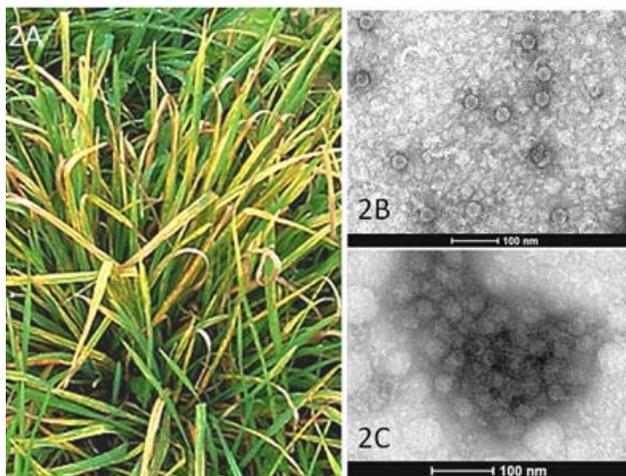


Figure 2: Chlorotic streaks and spots on cocksfoot plant sample StP2 (A), containing isometrical virus particles with a diameter of about 30 nm (B). Decorated and clumped particles after treatment with antiserum to *Ryegrass mottle virus* (C)



Figure 3: Necrotic and dead plants in a cultivated area of Italian ryegrass cv. 'Meroa RvP'

and cocksfoot in Japan by TORIYAMA et al. (1983). In Germany the virus was first detected in ryegrass breeding clones and in *Bromus* species (RABENSTEIN et al. 1998b). The occurrence of RgMoV in *D. glomerata* plants is new for Central Europe. There are no reports on yield losses caused by RgMoV infections in fodder grasses in the literature. Unexpectedly, however, the virus was found with high incidence in a cultivated area (17 ha) of Italian ryegrass (*Lolium multiflorum* Lam.) cv. 'Meroa RvP' last year at one location in Saxony-Anhalt in Germany (Figure 3). A more detailed analysis revealed that more than 60% of the plants in the field grown for dairy cattle feeding were infected by RgMoV causing a considerable reduction in yield and forage quality.

Interestingly, an investigation of several wild grass species along the field edge showed that other, yet unidentified viruses were present. For example, in mixed infected tall oat-grass (*Arrhenatherum elatius* (L.) P. Beauv. ex J. Presl & C. Presl) both flexible, filamentous and isometric viruses were observed by electron microscopy. Similarly, hitherto unknown viruses could be isolated from a tall oat-grass sample collected last year in Austria. The viruses were transmitted by mechanical inoculation to several test plants like winter wheat cv. 'Alcedo', *Lamarckia aurea* L., *Lagurus ovatus* L., and *A. elatius*. With the exception of wheat all inoculated plants contained both forms of virus. Further studies are necessary to identify and characterise these viruses.

## Conclusions

From our studies it can be concluded that probably the extent of virus infections in grasses is much higher than expected and that the influence of virus infections in nature has been significantly underestimated. Virus symptoms on wild grasses can differ from those seen in field crops (e.g. obvious foliar discoloration, mosaic, streaks, mottling etc.) and thus may have been overlooked. Further studies are required to test this hypothesis. The situation may be turn out to be more complex since recent findings showed that plant viruses may alter insect behaviour in order to enhance their spread to new hosts (INGWELL et al. 2012).

## References

- HUSS H, PLANK M, 2008: Getreideviren im Vormarsch! Der Pflanzenarzt 61 (8), 13-15.
- HUSS H, RABENSTEIN F, 2012: Weitere Funde in Oberösterreich: Das Gerstengelmosaikvirus breitet sich aus. Der Pflanzenarzt 65 (8), 8-9.
- INGWELL LL, EIGENBRODE SD, BOSQUE-PÉREZ NA, 2012: Plant viruses alter insect behavior to enhance their spread. Scientific Reports 2, 578. DOI: 10.1038/srep00578
- NAVIA D, SANTOS DE MENDONCA R, SKORACKA A, SZYDŁO W, KNIHINICKI D, HEIN GL, VALLE DA SILVA PEREIRA PR, TRUOL G, LAU D, 2013: Wheat curl mite, *Aceria tosichella*, and transmitted viruses: an expanding pest complex affecting cereal crops. Exp Appl Acarol 59, 95-143.
- OBERFORSTER M, 2003: Viröse Gelbverzwergung bei Wintergetreide in Österreich - Sortenreaktion und Gegenstrategien. Bericht 53. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2002, 99-106. BAL Gumpenstein, Irndning.
- PLUMB RT, 2006: Virus diseases of cereals. eLS. John Wiley & Sons, Chichester. DOI: 10.1038/npg.els.0004247
- RABENSTEIN F, HABEKUSS A, HUSS H, 2011: *Brome streak mosaic virus* (BrSMV): Ein neues Gräser- und Getreidevirus in Österreich. Der Pflanzenarzt 64 (5); 10-12.
- RABENSTEIN F, HUTH W, LESEMANN DE, EHRIG F, 1998a: Raygrasscheckungs-Virus (*ryegrass mottle virus*) - ein neues Virus an Weidelgras-Zuchtklonen. Tagungsband 40. Fachtagung des DLG-Ausschusses „Gräser, Klee und Zwischenfrüchte“, 2.-3. Dez., Fulda, 85-89.
- RABENSTEIN F, HUTH W, LESEMANN DE, EHRIG F, TORIYAMA S, 1998b: First detection of ryegrass mottle virus in *Lolium* breeding lines and in *Bromus* spec. in Germany. Book of Abstracts, 8<sup>th</sup> Conference on Virus diseases of *Gramineae* in Europe, 25-28 May, Goslar.
- RABENSTEIN F, MAISS E, FRENCH R, 2010: Charakterisierung neuartiger Potyviren in Futtergräsern der Gattungen *Festuca* und *Dactylis* in Deutschland. Julius-Kühn-Archiv 428, 332-333.
- RABENSTEIN F, STENGER DC, FRENCH R, 2004: Genus *TRITIMOVIRUS*. In: LAPIERRE H, SIGNORET PA (Eds.), Viruses and virus diseases of *Poaceae* (*Gramineae*), 398-402. INRA Editions, Paris.
- RABENSTEIN F, SUKHACHEVA E, HABEKUSS A, SCHUBERT J, 2005: Differentiation of *Wheat dwarf virus* isolates from wheat, triticale and barley by means of a monoclonal antibody. Abstracts, 10<sup>th</sup> Conference on Viral diseases of *Gramineae* in Europe, Louvain-la-Neuve, p. 60.
- SCHUBERT J, HABEKUSS A, KAZMAIER K, JESKE H, 2007: Surveying cereal-infecting geminiviruses in Germany - diagnostics and direct sequencing using rolling circle amplification. Virus Res 127, 61-70.
- STEPHAN D, MOELLER I, SKORACKA A, EHRIG F, MAISS E, 2008: Eriophyid mite transmission and host range of a *Brome streak mosaic virus* isolate derived from a full-length cDNA clone. Arch Virol 153, 181-185.
- TORIYAMA S, MIKOSHIBA Y, DOI Y, 1983: Ryegrassmottle virus, a new virus from *Lolium multiflorum* in Japan. Ann Phytopathol Soc Jpn 49, 610-618.

---

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



## Evaluation of disease resistance in wheat supplemented with *Pm3b*

Fabio Mascher<sup>1\*</sup>, Caterina Matasci<sup>1,2</sup>, Yvan Kneubuehler<sup>1</sup>,  
Susanne Brunner<sup>3</sup>, Arnold Schori<sup>1</sup> and Beat Keller<sup>3</sup>

### Abstract

The introduction of genes into the wheat genome by genetic modification (GM) technology may change phenotypic traits in the wheat other than the introduced one. The present experiments aim at testing the efficacy of an additional *Pm3b* gene against powdery mildew, caused by *Blumeria graminis* f.sp. *tritici* into the spring wheat variety 'Bobwhite' and examines alterations in the resistance reaction against yellow rust and *Fusarium* head blight. The experiments have been realised with four independently transformed 'Bobwhite' lines and their corresponding sister-lines. The results obtained show clearly that the additional resistance gene reduces the disease severity significantly in all transformed lines but not in the sister-lines. The stability of the resistance depends on the stability of the expression of the transgene as shown elsewhere. One transgenic line shows enhanced resistance against yellow rust and two transgenic lines are slightly more susceptible towards *Fusarium* head blight infections. In the four transgenic events studied here, two lines showed changed resistance reactions against yellow rust or FHB. Therefore, side effects of the genetic modifications seem to be quite frequent. These results are important for breeding of GM wheat varieties or the testing of such varieties.

### Keywords

Genetic engineering, *Fusarium* head blight, GMO, powdery mildew, transgenic wheat, unintended effects, yellow rust

### Introduction

Genetic modification (GM) technology offers the possibility to introduce traits into cultivated plants which are difficult, time consuming or even impossible to transfer by other means. By this, plants can be obtained that show improved resistance to biotic and abiotic stresses, enhanced quality criteria or produce new or higher contents of secondary metabolites (SLATER et al. 2008, GUPTA 2011). Genetically modified plants bear therefore very interesting agronomic and economic potentials. However, because of environmental and health safety apprehensions as well as social and economic considerations, the use of genetically

modified plants is highly controversial (DAVISON 2010). Agronomic tests of GM plants often focus on the verification of the improvement of the target trait assuming equivalence in substance. Only limited information is available on non-target effects in genetically modified crop plants under field cropping conditions (SAINT PIERRE et al. 2012). From a physiological point of view, the introduction of a foreign gene into an existing genetic background can have different types of consequences. In the first step of transformation, the insertion of the foreign gene into the genome is highly fortuitous and can hardly be directed by the operator (HANSEN and WRIGHT 1999). This fortuitous insertion may disrupt genes, provoke mutations and alter expression of other genes (BREGITZER et al. 1998). During the regeneration process of the modified cell to plants, different cultivation steps usually on agar media have to be passed (BRUNNER et al. 2011). The occurrence of physiological and genetically rearrangements such as somaclonal variations during regeneration are well documented (BAIRU et al. 2011). Finally, the expression of the new gene itself can be modified by pre-existing genes and it can modify the expression of pre-existing genes itself; plants may show pleiotropic effects (RAVEL et al. 2009).

The present work examines the influence of a transgenically introduced specific powdery mildew resistance gene in the spring wheat variety 'Bobwhite' on the reaction against the target disease and two other common fungal diseases of wheat. The tests are realised in field trials with artificial infections. The resistance reactions of the transgenic lines are compared with those of the original variety 'Bobwhite', isogenic sisterlines and recent commercial, non-transgenic, spring wheat varieties.

### Material and Methods

#### *Plant material*

Experiments were performed with the spring wheat genotypes described in *Table 1*. Transgenic *Pm3b* lines are based on the CIMMYT variety 'Bobwhite S28'. Control consisted in the original variety 'Bobwhite S28', non-transgenic sister-lines and four recently released Swiss varieties. For each resistance test, particularly resistant or susceptible varieties were planted.

<sup>1</sup> Agroscope Changins-Wädenswil research station ACW, Research Department Crop Breeding and Genetic Resources, Route de Duillier 50, CH-1260 NYON

<sup>2</sup> Delley seeds and plants Ltd, Delley Castle, Route de Portalban 40, CH-1567 DELLEY

<sup>3</sup> University of Zürich, Institute of Plant Biology, Zollikerstrasse 107, CH-8008 ZÜRICH

\* Corresponding author: Fabio MASCHER, fabio.mascher@acw.admin.ch

## Experimental design

The experiments were conducted at the research centre Pully of Agroscope Changins-Wädenswil, in 2009. Separate trials have been planted to test the resistance against powdery mildew, yellow rust and *Fusarium* head blight. The resistance tests were separated by two lines of the spring triticale ‘Trado’ (Agroscope/DSP). The varieties were seeded by hand in pockets consisting of 40 seeds each respecting 30 cm distance between the pockets in each direction. The replicates of each disease resistance test were separated by one line (infection line) of a particularly susceptible variety (Table 1). No fungicide treatment was applied. The presence of the frit fly (*Oscinella frit*) was monitored until heading (BBCH stage 40). When more than 1 egg·m<sup>-2</sup> was counted, chemical control using Karate Zeon (Syngenta Agro AG, Dielsdorf, Switzerland; 75 l in 300 l water·ha<sup>-1</sup>) was applied.

## Artificial infections

Isolates of all pathogens have been collected on the Swiss territory and represent the virulences present (MASCHER et al. 2010, 2012a). Powdery mildew isolates (*Blumeria graminis* fsp. *tritici*) were maintained in planta and multiplied in the greenhouse on the particularly sensible genotypes ‘Kanzler’ (Saatzucht Engelen) and ‘Or<sup>2</sup>’ under cellophane bags, to keep isolates isolated. Infected plants were planted in-between the infection lines of the powdery mildew test. Yellow rust isolates (*Puccinia striiformis*) were conserved freeze-dried at 3°C and multiplied on the susceptible varieties ‘Coker’ and ‘Eridano’ (SPS Bologna). Plants presenting a big amount of spores of the pathogen were planted into the infection lines of the powdery mildew tests. Additionally, spores suspended in mineral oil were spray-inoculated. Infections in the *Fusarium* head blight resistance tests were realised with isolates of *Fusarium culmorum*. Isolates were mass-produced on humidified oat kernels in Erlenmeyer flasks. Wheat genotypes were infected 3 times at flowering at a concentration of 10<sup>6</sup> spores·ml<sup>-1</sup>.

## Symptom scoring

In the powdery mildew and yellow rust tests, severity was scored according to the infected surface of leaf on a 1 to 9 scala (1: no infection; 9:100% infection) following a logistic progression scheme (Table 2). For *Fusarium* head blight, data on the disease incidence, i.e. frequency of infection, were collected. Here, number of infected ears on a sample of 30 spikes per replicate was counted. According to the onset and the duration of the infection, symptoms were scored in average five times.

## Statistical analysis

The experiment was set up as a complete randomized block with four replicates.

Table 1: Origin and description of the wheat lines and varieties tested in this work

Name	Description	Origin/Breeder
<i>Pm3b</i> -1tg	Transgenic line with <i>Pm3b</i>	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -1sl	Non transgenic sister-line of <i>Pm1</i> tg	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -2tg	Transgenic line with <i>Pm3b</i>	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -2sl	Non transgenic sister-line of <i>Pm2</i> tg	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -3tg	Transgenic line with <i>Pm3b</i>	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -3sl	Non transgenic sister-line of <i>Pm3</i> tg	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -4tg	Transgenic line with <i>Pm3b</i>	Univ Zürich, B. Keller
<i>Pm3b</i> -4sl	Non transgenic sister-line of <i>Pm4</i> tg	Univ Zürich, B. Keller
Bobwhite	Original variety of the <i>Pm3b</i> transgenic lines	CIMMYT, Mexico
Frisal	Commercial variety	Agroscope/DSP
Toronit	Commercial variety	Agroscope/DSP
Fiorina	Commercial variety	Agroscope/DSP
Casana	Commercial variety	Agroscope/DSP
Rubli	Commercial variety	Agroscope/DSP
Oi--	Experimental line; comparison for powdery mildew	Agroscope
OiS	Experimental line; comparison for powdery mildew	Agroscope
Eridano	Commercial variety; comparison for yellow rust	SPS Bologna, Italy
Aletsch	Commercial variety; comparison for yellow rust	Agroscope/DSP
Nadro	Commercial variety; comparison for FHB	Agroscope/DSP
Sonalika	Commercial variety; comparison for FHB	CIMMYT, Mexico

Table 2: Scoring scheme for the estimation of disease severity

Score	Surface with visible symptoms (%)
1	0
2	2.5
3	12.5
4	25
5	50
6	75
7	87.5
8	97.5
9	100

Each block was one replicate and harboured 18 wheat varieties. The disease severity and incidence scorings were integrated with the duration of observation (in days post infection) result in the calculation of the area under the disease progress curve (AUDPC). Subsequent statistical analyses were done on the relative AUDPC, (AUDPC value divided by days of observation).

Statistical analyses consisted of testing the significance of differences between all varieties using ANOVA (Analysis of Variance). Single differences between individual varieties were tested with Tukey’s HSD post-hoc test. All tests were retained significant at  $P < 0.02$ . Statistical calculations were done with SigmaPlot 11.0 (Systat Software Inc., Chicago, USA).

## Results

### Powdery mildew

The results of the powdery mildew test are displayed in Figure 1. The four transgenic lines bearing the resistance gene *Pm3b* showed an elevated level of resistance in comparison to the original ‘Bobwhite’ line and their corresponding sister-lines. The commercial cultivar ‘Toronit’ that contains the *Pm3b*-gene (O. Moullet, pers. commun.) was also highly resistant.

### Yellow rust

The results of the yellow rust tests are displayed in Figure 2. Infection levels of the susceptible control variety ‘Eridano’

displayed the elevated infection pressure in the resistance test. ‘Bobwhite’ and the derived transgenic and sister lines showed a high infection level. Exception made for the transgenic line *Pm3b-2tg* showing a low infection level, comparable with the commercial varieties which are regarded as resistant.

### *Fusarium* head blight

The incidence of the *Fusarium* head blight infections are in Figure 3. In comparison to the susceptible control varieties ‘Sonalika’, the infection levels are rather low. ‘Bowwhite’ shows an intermediate resistance, that is statistically not different with the other ‘Bobwhite’ derived transgenic and sister-lines. When comparing transgenic lines and their sister-lines, the transgenic lines *Pm3b-1tg* and *Pm3b-2tg* show a statistically significantly higher disease incidence than their sister-lines.

### Discussion

In this study, we compared the disease resistance of four transformation events of ‘Bobwhite’ with the *Pm3b* gene (BRUNNER et al. 2011). For each event, we used the transgenic line and its sister-line. The sister-line is the non-transgenic isoline obtained after segregation in the T1 generation. The sister-line has passed therefore the same transformation and regeneration process as the transgenic line without hosting the transgene. This is therefore a perfect tool to study eventual phenotypically modifications due to the biotechnological processes, as for instance somaclonal variations.

The powdery mildew resistance test shows clearly that the supplementary *Pm3b* resistance gene reduced strongly the disease severity in comparison to the original variety

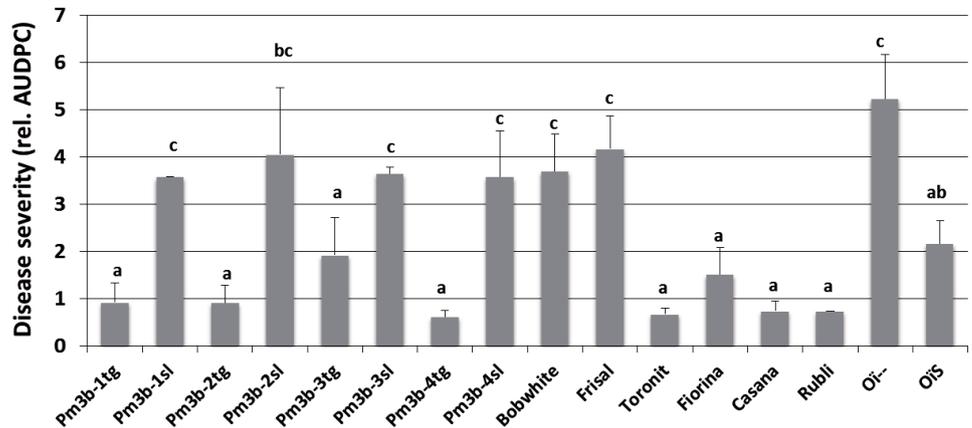


Figure 1: Disease severities of the wheat genotypes tested in the resistance test with powdery mildew. Bars designate the standard deviation; different letters indicate statistically significant differences at  $P < 0.02$ .

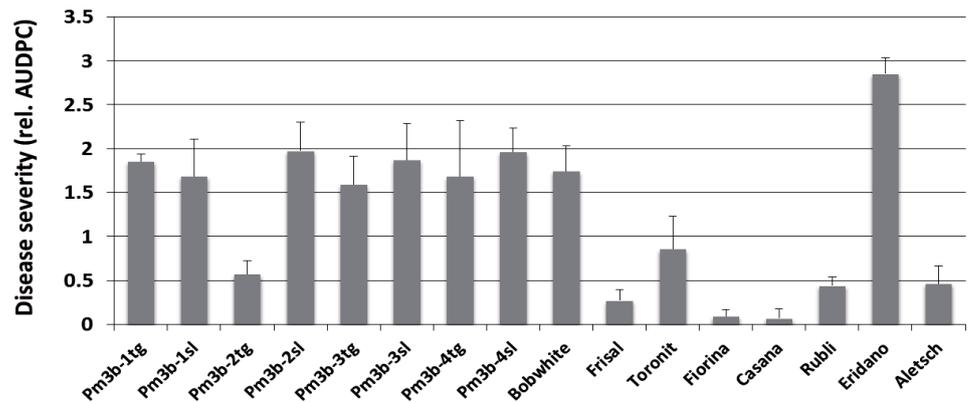


Figure 2: Disease severities of the wheat genotypes tested in the resistance test with yellow rust. Bars designate the standard deviation; different letters indicate statistically significant differences at  $P < 0.02$ .

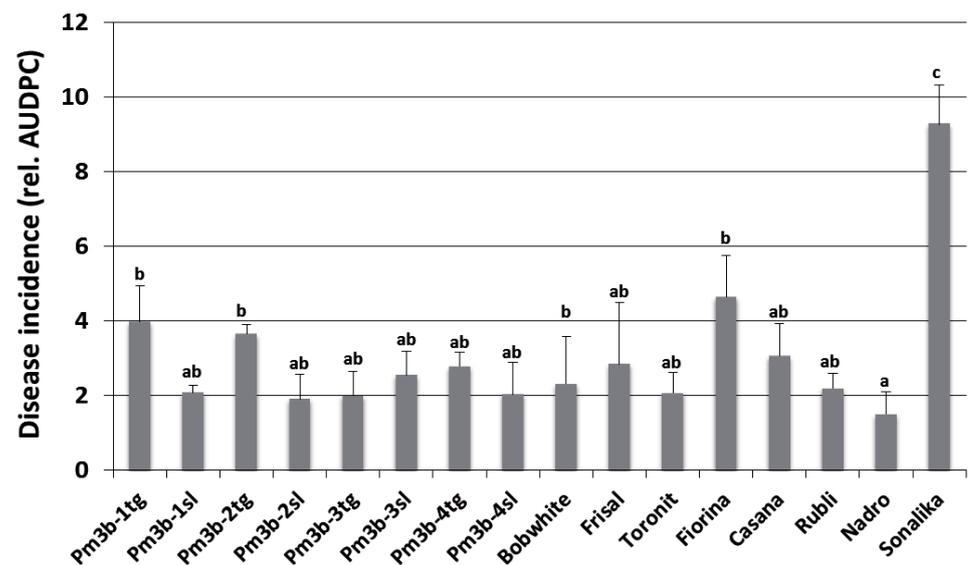


Figure 3: Disease incidences of the wheat genotypes tested in the resistance test with *Fusarium* head blight. Bars designate the standard deviation; different letters indicate statistically significant differences at  $P < 0.02$ .

‘Bobwhite’ and the sister-lines. This has been proven in several other independent experiments (BRUNNER et al. 2011, ALVAREZ-ALFAGEME et al. 2011). The resistance reaction of the transgenic line *Pm3b*-3tg shows huge standard deviation (Figure 1). Previous expression studies have given evidence that the transgene is not expressed equally among all the individual plants of this genotype. In certain individuals, the gene is silenced (BRUNNER et al. 2011).

The transgenic line *Pm3b*-2tg shows enhanced resistance against yellow rust. BRUNNER et al. (2011) demonstrate that this line overexpresses the *Pm3b* gene. It is conceivable that an overexpressed resistance gene leads to a resistance reaction against another pathogen. This hypothesis applies exclusively to yellow rust since there was no alteration in the resistance to brown rust, *Septoria* leaf and ear diseases or smuts (results not shown). The finding of an interaction of a specific powdery mildew reaction with yellow rust might be an interesting starting point for complementary studies.

In the FHB study, the presence of the *Pm3b* gene seemed to enhance susceptibility to *Fusarium* infection of the spikelets. It is well known, that resistance against FHB is governed by a myriad of genes (BUERSTMAYR et al. 2009). It is conceivable that the presence of supplementary genes might interfere directly with minor resistance genes or housekeeping genes.

Obviously, transgenesis conferred not only novel traits to the variety ‘Bobwhite’, but induced also changes in its resistance reaction against other diseases in field trials. This is an important finding that has to be considered in eventual future variety trials with transgenic wheat. For breeding, it is probably necessary to test a large number of transformed lines to be able to select those that do not show non-desired side effects induced by genetic modifications.

Modern wheat breeding is based on pedigree selection (FOSSATI and BRABANT 2003). The progress made with genomic breeding is continuously included in the selection processes (MOULLET et al. 2008). The information obtained in the present work contributes to the understanding of the way resistance genes act. Genes such as *Pm3b* are routinely used in breeding programmes and it is of utmost importance to make the use of these resistance genes more durable. Testing of transgenic wheat lines must include not only the common yield, quality and resistance tests but must consider eventual side effects and other phenological variations.

## Acknowledgement

This work has been realised within the National Research Programme NRP 59, conducted by the Swiss National Science Foundation. We gratefully acknowledge this financial support. We would like to express thanks to all

the technicians and student workers involved in planting, infecting and scoring: Pierre Pignon, Maëva Mollion and Anne-Laure Maire.

## References

- ALVAREZ-ALFAGEME F, VON BURG S, ROMEIS R, 2011: Infestation of transgenic powdery mildew-resistant wheat by naturally occurring insect herbivores under different environmental conditions. *Plos One* 6, e22690.
- BAIRU MW, AREMU AO, VAN STADEN J, 2011: Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regul* 63, 147-173.
- BREGITZER P, HALBERT SE, LEMAUX PG, 1998: Somaclonal variation in the progeny of transgenic barley. *Theor Appl Gen* 96, 421-425.
- BRUNNER S, HURNI S, HERREN G, KALININA O, VON BURG S, ZELLER SL, SCHMID B, WINZELER M, KELLER B, 2011: Transgenic *Pm3b* wheat lines show resistance to powdery mildew in the field. *Plant Biotech J* 9, 897-910.
- 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.
- DAVISON J, 2010: GM plants: science, politics and EC regulations. *Plant Sci* 178, 94-98.
- FOSSATI D, BRABANT C, 2003: Le sélection du blé en Suisse. Le programme des stations fédérales. *Revue suisse d'Agriculture* 35, 169-180.
- GUPTA RK, 2011: Food security, genetically modified crops and environment. *Int Proc Chem Biol Env Eng* 4, 305-310.
- HANSEN G, WRIGHT MS, 1999: Recent advances in the transformation of plants. *Trend Plant Sci* 4: 226-231.
- MASCHER F, HABERSAAT M, KELLENBERGER S, 2010: Bedroht der Gelbrost den Weizenanbau in der Schweiz? *Agrarforschung* 1, 244-251.
- MASCHER F, MATASCI C, KELLENBERGER S, BEURET B, BEURET M, BUSSLINGER G, DOERNTE J, GYGAX M, HECKER A, HEINZER L, HOCHSTRASSER M, HORNER M, KUNZ P, MERZ U, 2012: Virulenzmonitoring und Populationsstruktur des Echten Mehltaus von 2003 bis 2010. *Agrarforschung* 3, 236-243.
- MOULLET O, FOSSATI D, MASCHER F, SCHORI A, GUADAGNUOLO R., 2008: Les marqueurs moléculaires comme outils dans la sélection des céréales. *Revue suisse d'Agriculture* 40, 133-138.
- RAVEL C, MARTRE P, ROMEUF I, DARDEVET M, EL-MALKI R, BORDES J, DUCHATEAU N, BRUNEL D, BALFOURIER F, CHARMET G, 2009. Nucleotide polymorphism in the wheat transcriptional activator *spa* influences its pattern of expression and has pleiotropic effects on grain protein composition, dough viscoelasticity, and grain hardness. *Plant Physiol* 151, 2133-2144.
- SLATER A, SCOTT NW, FOWLER MR, 2008. *Plant biotechnology: The genetic manipulation of plants*, 2<sup>nd</sup> Ed. Oxford University Press, Oxford.
- SAINT PIERRE C, CROSSA JL, BONNETT D, YMAGUCHI-SHINOZAKI K, REYNOLDS MP, 2012: Phenotyping transgenic wheat for drought resistance. *J Exp Bot* 63, 1799-1808.

## Fusarium head blight resistance in modern winter wheat: association of plant morphological traits with resistance and relation of resistance to *F. graminearum* with resistance to *F. sporotrichioides*

Hermann Buerstmayr<sup>1\*</sup>, Maria Buerstmayr<sup>1</sup>, David Bloech<sup>1</sup>, Marc Lemmens<sup>1</sup>, Jutta Förster<sup>2</sup>,  
Laure Duchalais<sup>3</sup>, Delphine Hourcade<sup>4</sup>, Laurent Guerreiro<sup>4</sup>, Valerie Laurent<sup>5</sup> and Olivier Robert<sup>5</sup>

### Abstract

While resistance of wheat to DON (deoxynivalenol) producing *Fusarium* species (e.g. *F. graminearum*, *F. culmorum*) has been well studied, the resistance response to T2/HT2 producers (e.g. *F. sporotrichioides*) is much less investigated. Likewise, while the role of DON in the pathogenesis process has been confirmed, a potential role of T2/HT2 as aggressiveness factors is currently unknown. We therefore performed artificial inoculation trials at three locations (two in France, one in Austria) during two seasons with 40 (2011) or 96 (2012) wheat lines or cultivars using *F. graminearum*, *F. sporotrichioides* or a mix of both species. The wheat lines comprised mainly current cultivars from France and Austria and several experimental lines.

We scored Fusarium head blight (FHB) visual symptoms and other morphological traits such as plant height, heading date and the extent of anther extrusion during flowering. Based on two year results we found that (1) there was a large genetic variation in FHB resistance among current cultivars, ranging from moderately resistant to highly susceptible; (2) Experimental lines which were selected for high FHB resistance have been confirmed; (3) Resistance to both investigated *Fusarium* species was highly correlated with  $r = 0.78$  to  $0.92$  in 2012 and 2011, respectively, indicating a common mechanism of resistance against DON and T2/HT2 producers; (4) The extent of anther extrusion was negatively correlated with FHB severity:  $r = -0.59$  (2012) to  $-0.76$  (2011), which is in full agreement with previous results by SKINNES et al. (2010). Anther extrusion may thus be a suitable trait for indirect selection. FHB severity was negatively

associated with plant height:  $r = -0.72$  (in both seasons) and weakly positively with heading date:  $r = 0.15$  (2011) to  $0.38$  (2012). Trials to re-evaluate these findings are underway.

Recent publications have shown that the widely used dwarfing genes *Rht-B1* (syn. *Rht1*) and *Rht-D1* (syn. *Rht2*) are associated with FHB resistance. The semi-dwarf allele *Rht-D1b* and to a lesser extent *Rht-B1b* appear to increase FHB susceptibility in wheat (MIEDANER and VOSS 2008, HOLZAPFEL et al. 2008, SRINIVASACHARY et al. 2009). In order to further evaluate the effects of these alleles we (1) developed and tested back-cross derived sister lines differing in their *Rht* alleles in a highly FHB resistant recipient line and (2) evaluated one doubled haploid population segregating at both loci. On average across seven NIL-pairs for *Rht-B1* we found that lines with the semi-dwarf allele *Rht-B1b* showed about 90% increased FHB severity compared to their sister lines which had the tall allele *Rht-B1a*. The difference was even more pronounced for *Rht-D1*, where on average across six NIL-pairs lines with the semi-dwarf allele *Rht-D1b* had about 160% higher FHB severity compared to lines with the *Rht-D1a* allele. Similarly in the DH population *Rht-D1b* lines were significantly higher diseased than *Rht-B1b* lines. Our data are in agreement with previous findings that semi-dwarfing alleles reduce FHB resistance and that *Rht-B1b* is less damaging than *Rht-D1b*. However, the negative effect of the semi-dwarf alleles can be balanced by selecting lines with other known or unknown FHB resistance QTL in their genome. Therefore, selection of semi-dwarf cultivars with good FHB resistance is difficult but feasible, and *Rht-D1b* should be avoided if high FHB resistance is desired.

### Acknowledgments

We acknowledge funding of this work by FSOV (Fonds de Soutien à l'obtention Végétale, France) for the research on different Fusarium species and ERANet EUROTRANS-BIO-1 for supporting the work on *Rht*-Genes.

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

<sup>2</sup> Saaten - Union Biotech GmbH, Hovedissen, Germany

<sup>3</sup> RAGT, 60 rue Léon Beauchamp, BP45, F-59930 LA CHAPELLE D'ARMENTIÈRES

<sup>4</sup> ARVALIS - Institut du végétal, 3 rue Joseph et Marie Hackin, F-75116 PARIS

<sup>5</sup> Bioplante - Florimond Desprez, BP41, F-59242 CAPPELLE EN PÉVÈLE

\* Corresponding author: Hermann BÜRSTMAYR, hermann.buerstmayr@boku.ac.at

## References

- MIEDANER T, VOSS HH, 2008: Effect of dwarfing *Rht* genes on Fusarium head blight resistance in two sets of near-isogenic lines of wheat and check cultivars. *Crop Sci* 48, 2115-2122.
- HOLZAPFEL J, VOSS HH, MIEDANER T, KORZUN V, HÄBERLE J, SCHWEIZER G, MOHLER V, ZIMMERMANN G, HARTLL, 2008: Inheritance of resistance to Fusarium head blight in three European winter wheat populations. *Theor Appl Genet* 117, 1119-1128.
- SKINNES H, SEMAGN K, TARKEGNE Y, MAROY AG, BJORNSTAD A, 2010: The inheritance of anther extrusion in hexaploid wheat and its relationship to Fusarium head blight resistance and deoxynivalenol content. *Plant Breed* 129, 149-155
- SRINIVASACHARY, GOSMAN N, STEEDA, HOLLINS TW, BAYLES R, JENNINGS P, NICHOLSON P, 2009: Semi-dwarfing *Rht-B1* and *Rht-D1* loci of wheat differ significantly in their influence on resistance to Fusarium head blight. *Theor Appl Genet* 118, 695-702.

## Mapping of QTL for Fusarium head blight resistance in three backcross populations derived from *Triticum dicoccum* × *T. durum*

Maria Buerstmayr<sup>1\*</sup>, Karin Huber<sup>1</sup>, Johannes Heckmann<sup>1</sup>,  
Barbara Steiner<sup>1</sup>, James C. Nelson<sup>2</sup> and Hermann Buerstmayr<sup>1</sup>

### Summary

Breeding for resistance to Fusarium head blight (FHB) in durum wheat continues to be hindered by the lack of effective resistance sources. Only limited information is available on resistance QTL for FHB in tetraploid wheat. Out of 52 QTL studies reviewed by BUERSTMAYR et al. (2009), only four concern resistance sources of tetraploid wheat. Although intensive screenings for FHB resistance in durum wheat were performed, only five lines - from a Tunisian source - with moderate resistance to FHB spread (ELIAS et al. 2005, HUHNS et al. 2012), were found. Therefore, further studies have been conducted to find resistance sources in cultivated or wild relatives of durum wheat (MILLER et al. 1998, BUERSTMAYR et al. 2003, CLARKE et al. 2004, KISHII et al. 2005, OLIVER et al. 2007, 2008). Moderately to good resistant material was found in *T. dicoccoides* (BUERSTMAYR et al. 2003, MILLER et al. 1998, OLIVER et al. 2007), cultivated emmer wheat, *T. dicoccum*, and Persian wheat, *T. carthlicum* (OLIVER et al. 2008).

In this study the resistance to FHB of a *T. dicoccum* line in the background of three Austrian *T. durum* cultivars was genetically characterized. Three populations of BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub>-derived RILs were developed from crosses between the resistant donor line *T. dicoccum*-161 and the Austrian *T. durum* recipient varieties DS-131621, 'Floradur' and 'Helidur'. About 130 BC<sub>1</sub>F<sub>4</sub>-derived lines per population were evaluated for FHB response using artificial spray inoculation in four field experiments during two seasons. Lines were genetically fingerprinted using SSR and AFLP markers. Map construction was done with CarthaGene 1.2-LKH for Linux (DE GIVRY et al. 2005). For this the marker data of all three populations

were merged and maps were calculated in that way, that the linkage groups in the individual populations shared the same marker ordering, but the distances between the markers were separately estimated within each population. QTL calculations were carried out with R version 2.12.2 (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2011). For FHB severity the mean temperature over four days after first inoculation was included as a covariable, and for the joint analysis of all experiments a multi-environment analysis was used.

Genomic regions on chromosomes 3B, 4B, 6A, 6B and 7B were significantly associated with FHB severity. FHB resistance QTL on 6B and 7B were identified in two populations and a resistance QTL on 4B appeared in three populations. The alleles that enhanced FHB resistance were derived from the *T. dicoccum* parent, except for the QTL on chromosome 3B. All QTL except the QTL on 6A mapped to genomic regions where QTL for FHB have previously been reported in hexaploid wheat. QTL on 3B and 6B coincided with *Fhb1* and *Fhb2*, respectively. This implies that tetraploid and hexaploid wheat share common genomic regions associated with FHB resistance. QTL for FHB resistance on 4B co-located with a major QTL for plant height and mapped at the position of the *Rht-B1* gene, while QTL on 7B overlapped with QTL for flowering time. Selected moderately FHB-resistant experimental lines from this project are used for further crossing and pyramiding FHB resistance into adapted durum wheat germplasm. For more details please refer to BUERSTMAYR et al. (2012).

### Keywords

Durum wheat, Fusarium head blight, QTL mapping, *Triticum dicoccum*

### Acknowledgments

We acknowledge funding of this work by FWF (Austrian Science Fund), project number: 17310-B05.

We also thank Peter Jack and James Christopher (RAGT, Cambridge, UK) for their assistance in SSR marker genotyping.

### 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.
- BUERSTMAYR M, HUBER K, HECKMANN J, STEINER B, NELSON JC, BUERSTMAYR H, 2012: Mapping of QTL for Fusarium head

<sup>1</sup> Department IFA Tulln, BOKU-University of Natural Resources and Life Science, Vienna, Konrad-Lorenz-Straße 20, A-3430 TULLN

<sup>2</sup> Department of Plant Pathology, Kansas State University, 4024 Throckmorton Plant Sciences Center, MANHATTAN, KS 66506, USA

\* Corresponding author: Maria BUERSTMAYR, maria.buerstmayr@boku.ac.at

- blight resistance and morphological and developmental traits in three backcross populations derived from *Triticum dicoccum* × *Triticum durum*. *Theor Appl Genet* 125, 1751-1765.
- 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.
- CLARKE J, THOMAS J, FEDAK G, SOMERS D, GILBERT J, POZNIAK C, FERNANDEZ M, COMEAU A, 2004: Progress in improvement of Fusarium resistance of durum wheat. In: CANTY SM, BORING T, WARDWELL J, WARD RW (eds), Proc 2<sup>nd</sup> Int Symp on Fusarium Head Blight, 11-15 Dec, Orlando, p 43. Michigan State University, East Lansing.
- DE GIVRY S, BOUCHEZ M, CHABRIER P, MILAN D, SCHIEX T, 2005: CARTHAGENE: multipopulation integrated genetic and radiated hybrid mapping. *Bioinformatics* 21, 1703-1704.
- ELIAS EM, MANTHEY FA, STACK RW, KIANIAN SF, 2005: Breeding efforts to develop Fusarium head blight resistant durum wheat in North Dakota. In: CANTY SM, BORING T, WARDWELL J, SILER L, WARD RW (eds), Proc 2005 National Fusarium Head Blight Forum, 11-13 Dec, Milwaukee, pp 25-26. Michigan State University, East Lansing.
- HUHN M, ELIAS E, GHAVAMI F, KIANIAN S, CHAO S, ZHONG S, ALAMRI M, YAHYAOU A, MERGOUM M, 2012: Tetraploid Tunisian wheat germplasm as a new source of Fusarium head blight resistance. *Crop Sci* 52, 136-145.
- KISHII M, BAN T, AMMAR K, 2005: Improvement of FHB resistance of durum wheat. In: CANTY SM, BORING T, WARDWELL J, SILER L, WARD RW (eds), Proc 2005 National Fusarium Head Blight Forum, 11-13 Dec, Milwaukee, p 52. Michigan State University, East Lansing.
- MILLER JD, STACK RW, JOPPA LR, 1998: Evaluation of *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* for resistance to Fusarium head blight and stem rust. In: SLINKARD AE (ed), Proc 9<sup>th</sup> Int Wheat Genet Symp, 2-7 Aug, Saskatoon, pp 292-293. Univ Saskatchewan Ext Press, Saskatoon.
- OLIVER R, STACK R, MILLER J, CAI X, 2007: Reaction of wild emmer wheat accessions to Fusarium head blight. *Crop Sci* 47, 893-899.
- OLIVER RE, CAI X, FRIESEN TL, HALLEY S, STACK RW, XU SS, 2008: Evaluation of Fusarium head blight resistance in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *Crop Sci* 48, 213-222.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

# Kombinierte Krankheitsresistenzen bei Weizen durch quantitative Breitspektrumsresistenz

## Combined disease resistances in wheat triggered by quantitative broad-spectrum resistance

Thomas Miedaner<sup>1\*</sup> und Peter Risser<sup>1,2</sup>

### Abstract

Septoria tritici blotch (STB), caused by *Septoria tritici*, Stagonospora glume blotch (SGB), caused by *Stagonospora nodorum*, and Fusarium head blight (FHB), caused by *Fusarium graminearum* and *F. culmorum*, are the most important diseases of winter wheat in the temperate growing areas. We were able to detect broad-spectrum resistance (BSR) quantitative trait loci (QTL) in two adapted European biparental populations (Arina/Forno, History/Rubens) during adult-plant stage in the field. The three resistances were phenotyped across four to seven field environments and phenotypic data revealed significant ( $P < 0.01$ ) genotypic differentiation with heritabilities ranging from 0.73 to 0.93. A BSR QTL for all three diseases was not found, but seven BSR QTL for all combinations with two diseases were detected. One of them was located on chromosome 4D at the *Rht-D1* locus. Combining the detected BSR QTL in present breeding material by applying marker-assisted selection seems a promising approach.

### Keywords

Fusarium head blight, quantitative resistance, QTL, Septoria tritici blotch, Stagonospora glume blotch, *Triticum aestivum*

### Einleitung

Das Ziel resistenter Sorten ist die Einsparung von Pflanzenschutzmitteln. Dies erhöht den Deckungsbeitrag für den Landwirt und ermöglicht eine umweltfreundliche und

ressourcenschonende Bekämpfung von Krankheiten. Für den praktischen Pflanzenzüchter ergibt sich daraus die Aufgabe, in seinen Sorten Resistenzen gegen alle Erreger anbieten zu müssen, die das gleiche Organ besiedeln. So bringt eine Resistenz gegen Mehltau bei Weizen wenig, wenn trotzdem gegen Blattseptoria Fungizide eingesetzt werden müssen. Inzwischen gibt es zahlreiche Sorten mit hervorragenden kombinierten Resistenzen gegen bis zu sechs pilzliche Krankheitserreger (Tabelle 1).

Der Idiotyp, der einer hypothetischen Sorte entspricht, die die besten derzeit in der Sortenliste verfügbaren Resistenzen kombiniert, zeigt jedoch, dass es durchaus noch Verbesserungsbedarf gibt. Außerdem sind Sorten mit solchen Mehrfachresistenzen häufig nicht im breiten Anbau vertreten. Das Ziel, Mehrfachresistenzen mit anderen komplex vererbten agronomischen Merkmalen zu kombinieren, kann durch Breitspektrumsresistenzen vereinfacht werden.

Breitspektrumsresistenzen (BSR, *broad spectrum resistance*) sind Resistenzen, die entweder gegen viele Rassen eines Pathogens oder gegen mehrere Pathogen-Taxa gleichzeitig wirken (WISSER et al. 2005). Es handelt sich hier um einzelne, molekular klar definierte Loci. Dies ist nicht zu verwechseln mit Genclustern, wo Resistenzen gegen mehrere Rassen/Pathogenarten in derselben, eng begrenzten Genomregion liegen, aber durch Kartierung unterscheidbar sind. Ein solches Gencluster liegt beispielsweise auf Chromosom 3B vor (MIEDANER et al. 2009).

BSR können sowohl monogenisch als auch quantitativ vererbt werden. Ein Beispiel für eine monogenische Breitspektrumsresistenz ist das inzwischen klonierte Gen *Lr34* des Weizens (KRATTINGER et al. 2009). Es wirkt gleich-

Tabelle 1. Beispiele für Sorten mit kombinierten Resistenzen gegen bis zu sechs Erregern (1 = gesund, 9 = sehr anfällig, BSL 2012)

Table 1. Some examples of cultivars with combined resistances towards up to six pathogens (1 = healthy, 9 = highly diseased, BSL 2012)

	Mehltau	Blattseptoria	DTR	Gelbrost	Braunrost	Ährenfusarium
<b>Idiotyp</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>3</b>	<b>2</b>	<b>2</b>	<b>2</b>
Hyland	1	3	4	2	2	4
Lucius	3	3	3	-	4	3
Oxal	3	3	3	3	3	5
Zeppelin	1	4	4	2	3	4

<sup>1</sup> Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART

<sup>2</sup> Gegenwärtige Adresse: Kuratorium für Versuchswesen und Beratung im Zuckerrübenanbau, Marktbreiter Straße 74, D-97199 OCHSENFURT

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

zeitig gegen Braunrost (*Lr34*), Gelbrost (*Yr18*), Mehltau (*Pm38*) und Gerstengelbverzwergungsvirus (*Bdv1*). Seine Wirkung ist dabei partiell, bei Braunrost müssen weitere Gene pyramidiert werden, um einen ausreichend hohen Effekt zu erzielen, dabei ist es nach heutigen Erkenntnissen aber dauerhaft. Als verantwortliches Gen wurde ein putativer ABC-Transporter identifiziert. Das ist eine große Familie von Membranproteinen, die als gemeinsames Strukturelement eine ATP-bindende Kassette (*ATP binding cassette*) besitzen und spezifische Substrate aktiv aus der Zelle heraustransportieren.

Inzwischen sind Gene aus *Arabidopsis*, Reis, Kartoffel und Paprika bekannt, die grundlegende Prozesse der Pathogenabwehr steuern und deshalb quantitative BSR vermitteln (KOU und WANG 2010). Dabei erkennt nach dem aktuellen Modell der Wirt-Pathogen-Interaktion die Wirtszelle pathogen-assoziierte molekulare Muster (z.B. Bestandteile der Pilzzellwand), so genannte PAMPs (*pathogen-associated molecular patterns*) und löst über unspezifische Rezeptoren (PRR, *pattern-recognition receptors*) Abwehrreaktionen aus, die sich gegen völlig unterschiedliche Erreger richten können (KOU UND WANG 2010). Da die PAMPs für den Pathogen unverzichtbar und hochkonserviert sind, sollte die sie auslösende BSR dauerhaft sein. Dieser Prozess funktioniert unabhängig von den Abwehrreaktionen, die durch rassenspezifische Resistenzen ausgelöst werden. Bei einer polygenischen Vererbung der BSR lassen sich entsprechend BSR QTL (*quantitative trait loci*) finden, die gleichzeitig gegen nicht-verwandte Pathogentaxa ein quantitatives Maß an Resistenz vermitteln.

Bei Weizen sind solche quantitativen BSR bisher nicht beschrieben. In der vorliegenden Studie suchen wir QTL, die gegen Ährenfusariosen (*Fusarium culmorum*), Blattseptoria (*Septoria tritici*) und/oder Spelzenbräune (*Stagonospora nodorum*) BSR bewirken.

## Methodische Voraussetzungen

Der Nachweis von BSR QTL setzt spaltende Populationen voraus, die gegen mehrere Krankheitserreger gleichzeitig quantitative Resistenzen zeigen. Nur dann kann klar gezeigt werden, dass derselbe QTL für mehrere Krankheitsresistenzen verantwortlich ist. Eine Meta-QTL-Studie, die auf unterschiedlichen Populationen und/oder genetischen Karten beruht, kann dies aufgrund der hohen Vertrauensintervalle an den einzelnen Meta-QTL nicht zweifelsfrei leisten. Uns standen zwei RIL-Populationen zur Verfügung, die diese Voraussetzung erfüllten (Tabelle 2). Der Resistenzträger 'Arina' stammt aus der Schweiz (Agroscope, Zürich), 'History' von der Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising. Die Resistenzprüfung fand in allen Fällen (außer bei

Spelzenbräune) durch künstliche Infektion des jeweiligen Krankheitserregers statt, es wurde an allen Orten mehrfach als Prozent befallene Fläche bonitiert. Bei der Infektion mit *S. tritici* wurden Isolate verwendet, die virulent für die in den Eltern enthaltenen Gene *Stb 6* und *Stb 15* waren. Die phänotypischen Daten wurden varianzanalytisch verrechnet, die genetischen Karten von den in Tabelle 2 genannten Autoren zur Verfügung gestellt. Sie umfassten 491 Marker bei History×Rubens, die 2.187 cM umspannten und 394 Marker bei Arina×Forno mit einer Genomlänge von 3.086 cM. Weitere Details finden sich bei RISSER (2010).

## Ergebnisse und Diskussion

Die Resistenzen gegen Ährenfusariosen, Blattseptoria und Spelzenbräune waren in den vorliegenden Kreuzungen jeweils quantitativ vererbt, die Befallswerte entsprachen einer Normalverteilung. Es ergaben sich über die Umwelten signifikante ( $P < 0.01$ ) genotypische Varianzen, der Anteil der Genotyp-Umwelt-Interaktionsvarianz war ebenfalls signifikant ( $P < 0.01$ ) und bedeutend, die operativen Heritabilitäten lagen aufgrund der großen Zahl an Umwelten zwischen 0,73 und 0,93. Für die einzelnen Krankheiten fanden sich drei bis sieben QTL, die zusammen zwischen 42 und 63% der phänotypischen Varianz erklärten.

Insgesamt vier QTL bei Arina×Forno und drei QTL bei History×Rubens zeigten eine Resistenz gegen jeweils zwei Krankheiten gleichzeitig. *Abbildung 1* zeigt zwei Beispiele, die belegen, dass die Gipfel der LOD-Kurven für die beiden Krankheitsresistenzen jeweils exakt übereinstimmen. Es handelt sich also nicht um eine bloße Kopplung nahe beieinanderliegender QTL, sondern mit großer Wahrscheinlichkeit um den Einfluss desselben Gens auf verschiedene, nicht-verwandte Pathosysteme. Die BSR QTL waren dabei signifikant über vier bis sieben Umwelten, sind also trotz der großen Genotyp×Umwelt-Wechselwirkungen der drei quantitativen Pathosysteme züchterisch einsetzbar. Weitere Details zur Charakterisierung der QTL finden sich bei MIEDANER et al. (2012).

Der BSR QTL von History×Rubens auf Chromosom 4D war identisch mit dem Zwerggen *Rht-D1* (syn. *Rht2*). Es erhöhte in diesem Fall nicht nur, wie bereits bekannt, die Anfälligkeit gegen Ährenfusarium, sondern auch gegen Blattseptoria. Es ist zu berücksichtigen, dass dabei die günstigen Allele von verschiedenen Eltern kommen. 'History' gilt als „resistent“, weil die Sorte das Wildtyp-Allel *Rht-D1a* (langstrohig) trägt, 'Rubens' ist durch das Allel *Rht-D1b* kurzstrohig. Die Anteile erklärter genotypischer Varianz waren in allen Fällen >20%.

Es gibt in der Literatur zahlreiche Erklärungsversuche für BSR QTL (KOU und WANG 2010). Im vorliegenden Fall

**Tabelle 2. Grundlegende Daten der untersuchten Weizenpopulationen (N = Populationsgröße)**

**Table 2. Basic characteristics of the analyzed wheat populations (N = population size)**

Population	Resistenz	Anzahl Umwelten	Referenz
History×Rubens (N=94)	Ährenfusariosen	5	VOSS et al. 2008, HOLZAPFEL et al. 2008
	Blattseptoria	6	MIEDANER et al. 2012
Arina×Forno (N=200)	Ährenfusariosen	6	PAILLARD et al. 2004
	Spelzenbräune	7	SCHNURBUSCH et al. 2003
	Blattseptoria	4	MIEDANER et al. 2012

**A. Arina x Forno (Chr. 4B)**

**B. History x Rubens (Chr. 7B)**

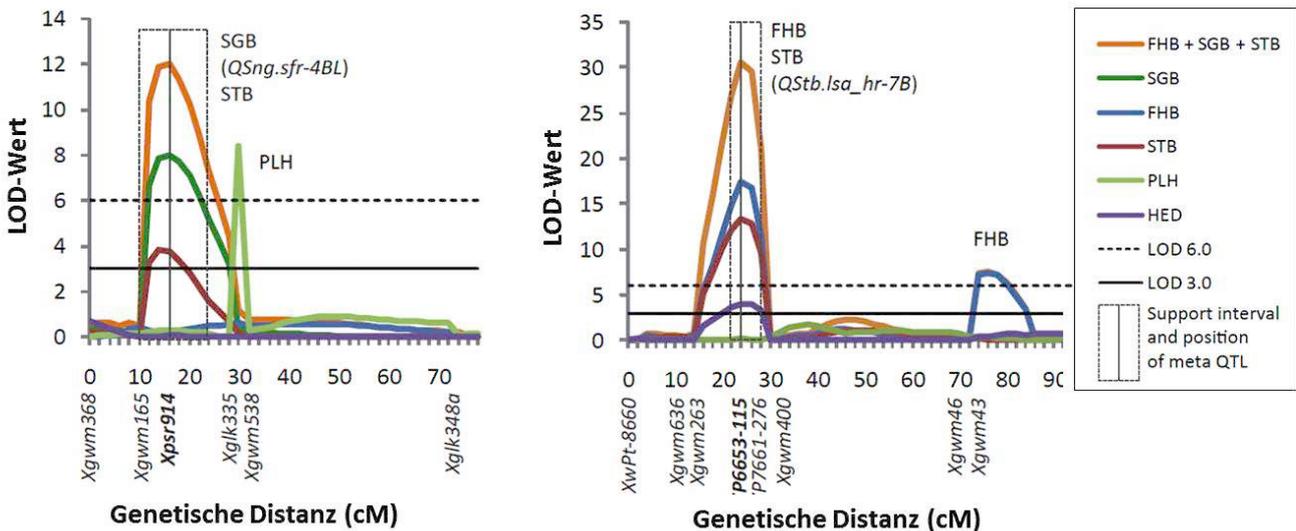


Abbildung 1. Zwei Beispiele für BSR QTL aus (A) Arina×Forno bzw. (B) History×Rubens für Resistenz gegen Ährenfusariosen (FHB), Blattseptoria (STB) bzw. Spelzenbräune (SGB); PLH, Wuchshöhe; HED, Datum des Ährenschiebens

Figure 1. Two examples for BSR QTL from the (A) Arina×Forno and (B) History×Rubens population for resistance to Fusarium head blight (FHB), Septoria tritici blotch (STB), and Stagonospora glume blotch (SGB); PLH, plant height; HED, date of heading

am wahrscheinlichsten ist es, dass die gefundenen QTL in Mechanismen der Basalresistenz und/oder allgemein vorhandener Signaltransduktionsketten eingreifen. Da die Pathogene nicht miteinander verwandt sind, unterschiedliche Organe (Blatt/Ähre), zu unterschiedlichen Pflanzenstadien (Erscheinen des Fahnenblatts/Blüte) befallen, könnte die Resistenz des Weizens durch allgemeine, hochkonservierte Pathogenitätsfaktoren (PAMPs) ausgelöst werden.

Es ist bemerkenswert, dass für alle paarweisen Vergleiche von Pathosystemen BSR QTL gefunden wurden, nicht jedoch für alle drei Pathosysteme gemeinsam (Abbildung 2). Dies mag jedoch auch daran liegen, dass die Resistenz gegen Spelzenbräune nur in einer Population untersucht wurde, die beiden anderen Krankheitsresistenzen jedoch in jeweils beiden Populationen. Dies erklärt auch die unterschiedliche Zahl von Resistenz-QTL für die drei Pathosysteme. In der vorliegenden Studie wurden Originaldaten von vier unterschiedlichen Promotionsprojekten verwendet (s. Tabelle 2). Dies bedeutet, dass die BSR QTL detektiert werden konnten, obwohl die Resistenzprüfungen in verschiedenen Umwel-

ten (Orte, Jahre), mit verschiedenen Infektionsmethoden (natürlich, künstlich), unterschiedlichen Bonitursystemen (Einzelpflanzen, Parzelle) sowie vier Bonituren stattfanden.

**Züchterische Konsequenzen**

Es wurden erstmals bei Weizen BSR QTL gefunden, die eine Resistenz gegen jeweils zwei nicht-verwandte Pathosysteme ermöglichen. Die große Zahl dieser BSR QTL

Tabelle 3. Wirkung des Zwerggens *Rht-D1* in der History×Rubens-Population: Additive Effekte, Donor und Anteil erklärter genotypischer Varianz ( $p_G$ )

Table 3. Impact of the dwarfing gene *Rht-D1* in the History×Rubens population: Additive effects, donor parent and percentage of explained genotypic variance ( $p_G$ )

Parameter	Wuchshöhe (cm)	Ährenfusarium (%) <sup>1</sup>	Blattseptoria (%)
Additiver Effekt	-8,6 **	-6,3 **	-9,8 **
Donor	Rubens	History	History
$p_G$ (%)	30,5	31,4	24,4

\*\* Signifikanter Effekt bei  $P < 0.01$  (Standard *t*-Test der multiplen Regression)

<sup>1</sup> Daten von HOLZAPFEL et al. (2008)

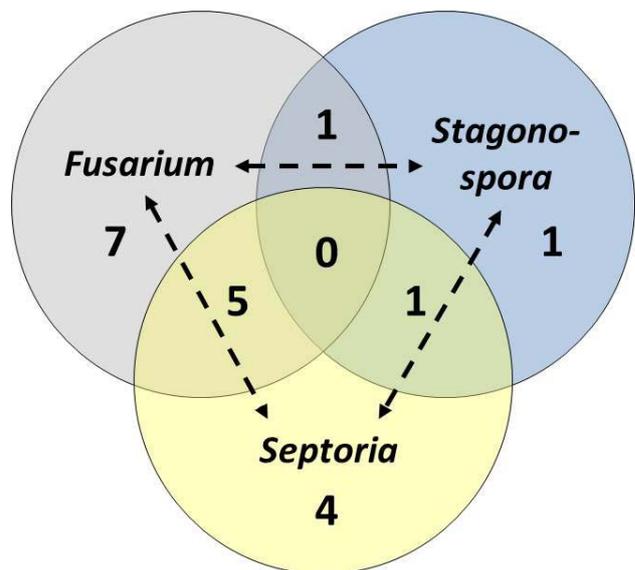


Abbildung 2. Anzahl der QTL, die für die drei Krankheitsresistenzen alleine bzw. überlappend zwischen je zwei Resistenzen gefunden wurden

Figure 2. Number of QTL identified for three disease resistances individually and combined for each of two resistances

weist daraufhin, dass es sich dabei nicht um ein seltenes Phänomen handelt. Die Nutzung solcher QTL erleichtert die Aufgabe des Züchters, Sorten mit möglichst vielen kombinierten Krankheitsresistenzen zu entwickeln. In Zukunft könnte es sinnvoll sein, nach erfolgter Selektion auf Kornertrag und Qualitätsmerkmale die entsprechenden QTL mit markergestützter Rückkreuzung in Sortenkandidaten einzulagern, um Sorten zu entwickeln, die nicht nur vielfach resistent sind, sondern auch wegen ihrer anderen Eigenschaften von den Landwirten nachgefragt werden.

## Danksagung

Unser Dank gilt den Kollegen, die großzügig ihre Daten bereitstellten (Dr. J. Holzapfel, Prof. Dr. B. Keller, Dr. S. Paillard, Dr. T. Schnurbusch), den beteiligten Projektpartnern (Dr. E. Ebmeyer, Dr. V. Korzun, Dr. L. Hartl) sowie dem technischen Personal der Universität Hohenheim, der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft und der KWS LOCHOW GMBH. Das Projekt wurde finanziell unterstützt vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, Bonn) *via* PTJ (Jülich) und der KWS LOCHOW GMBH innerhalb des Deutsch-Französisch-Spanischen Projektes ERA-Net PG-CEREHEALTH (Project no: 0313992B).

## Literatur

- BSL (BESCHREIBENDE SORTENLISTE), 2012: Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte. Bundessortenamt, Hannover, Deutschland.
- HOLZAPFEL J, VOSS H-H, MIEDANER T, KORZUN V, HÄBERLE J, SCHWEIZER G, MOHLER V, ZIMMERMANN G, HARTL L, 2008: Inheritance of resistance to Fusarium head blight in three European winter wheat populations. *Theor Appl Genet* 117, 1119-1128.
- KOU Y, WANG S, 2010: Broad-spectrum and durability: understanding of quantitative disease resistance. *Curr Opin Plant Biol* 13, 181-185.
- KRATTINGER SG, LAGUDAH ES, SPIELMEYER W, SINGH RP, HUERTA-ESPINO J, McFADDEN H, BOSSOLINI E, SELTER LL, KELLER B, 2009: A putative ABC transporter confers durable resistance to multiple fungal pathogens in wheat. *Science* 323, 1360-1363.
- MIEDANER T, LÖFFLER M, RISSER P, SCHWEIZER P, EBMEYER E, KORZUN V, KESSEL B, OUZUNOVA M, 2009: Genetische und molekulare Analyse von drei Pathosystemen bei Weizen und Mais - *Fusarium* & *Septoria*. 59. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2008, 13-18. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.
- MIEDANER T, RISSER P, PAILLARD S, SCHNURBUSCH T, KELLER B, HARTL L, HOLZAPFEL J, KORZUN V, EBMEYER E, UTZ HF, 2012: Broad-spectrum resistance loci for three quantitatively inherited diseases in two winter wheat populations. *Mol Breed* 29, 731-742.
- PAILLARD S, SCHNURBUSCH T, TIWARI R, MESSMER M, WINZELER M, KELLER B, SCHACHERMAYR G, 2004: QTL analysis of resistance to Fusarium head blight in Swiss winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 109, 323-332.
- RISSER P, 2010. Mapping of quantitative-trait loci (QTL) for adult-plant resistance to *Septoria tritici* in five wheat populations (*Triticum aestivum* L.): PhD thesis, Univ. Hohenheim. [Internet: <http://opus.ub.uni-hohenheim.de/volltexte/2010/517/>; verifiziert 9 Nov 2012]
- SCHNURBUSCH T, PAILLARD S, FOSSATI D, MESSMER M, SCHACHERMAYR G, WINZELER M, KELLER B, 2003: Detection of QTLs for Stagonospora glume blotch resistance in Swiss winter wheat. *Theor Appl Genet* 107, 1226-1234.
- VOSS HH, HOLZAPFEL J, HARTL L, KORZUN V, RABENSTEIN F, EBMEYER E, COESTER H, KEMPF H, MIEDANER T, 2008: Effect of the *Rht-D1* dwarfing locus on Fusarium head blight rating in three segregating populations of winter wheat. *Plant Breed* 127, 333-339.
- WISSER RJ, SUN Q, HULBERT SH, KRESOVICH S, NELSON RJ, 2005: Identification and characterization of regions of the rice genome associated with broad-spectrum, quantitative disease resistance. *Genetics* 169, 2277-2293.

---

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

## Auswirkungen geänderter Pflanzenschutzrahmenbedingungen auf die Pflanzenzüchtung

### New legal framework for plant protection products - possible impacts on plant breeding

Gottfried Besenhofer<sup>1\*</sup>

#### Abstract

The legal framework for plant protection products in the EU has changed significantly in recent times. The placing of plant protection products on the market is regulated uniformly EU-wide by regulation (EC) No 1107/2009, which is in force since 14 June 2011. Furthermore the directive 2009/128/EC was published to establish a framework for Community action to achieve the sustainable use of pesticides.

The biggest potential impact on the availability of plant protection products and the possibility to control pest and diseases can be seen in regulation (EC) No 1107/2009, in article 50 (comparative assessment of plant protection product containing candidates for substitution) and in the so called 'cut-off-criteria' for new active substances. Whereas the possibility of negative impacts on the availability of plant protection products due to comparative assessment can be regarded as low, the 'cut-off-criteria', especially the endocrine disrupting properties may have a big impact. Based on the fact that the whole group of active substances of the azoles is suspected to act as endocrine disrupter and based on the fact that the azole class is very potent and widely actively used especially in cereals limitation could be worse. The development of the criteria in terms of endocrine disrupting is still in progress and the final version is expected at the end of 2013.

#### Keywords

Azole, endocrine disrupter, legal framework, pesticide, plant protection products

#### Einleitung

Die gesetzlichen Rahmenbedingungen im Pflanzenschutz haben sich in den letzten Jahren massiv verändert. Das Inverkehrbringen von Pflanzenschutzmitteln wird nunmehr EU-weit einheitlich mit der EU-Verordnung 1107/2009 geregelt, die seit 14. Juni 2011 anzuwenden ist. Betreffend der Verwendung von Pflanzenschutzmitteln wurde seitens der EU mit der Richtlinie 2009/128/EG über einen Aktionsrahmen für die nachhaltige Verwendung von Pflanzenschutzmitteln ein einheitlicher Rahmen geschaffen.

Erwähnenswert sind noch das Pflanzenschutzmittelgesetz 2011 sowie die erst kürzlich veröffentlichten Pflanzenschutzgesetze der Bundesländer, die die Verwendung von Pflanzenschutzmitteln regeln.

#### Vergleichende Bewertung

Die größten potentiellen Auswirkungen auf die Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln und damit einhergehend auf die Möglichkeit der Krankheits- und Schädlingsbekämpfung können der EU-Verordnung 1107/2009 zugerechnet werden. Schon im Vorfeld der Entstehung dieser Verordnung gab es intensive Diskussionen über die Umsetzbarkeit dieser neuen Verordnung und die möglichen Auswirkungen auf den Pflanzenschutz und den Pflanzenbau in Europa. In diesem Zusammenhang sind insbesondere die „Vergleichende Bewertung“ (Artikel 50), bei der Pflanzenschutzmitteln, die Wirkstoffe mit negativen Eigenschaften enthalten, ersetzt werden sollen und die Ausschlusskriterien für Wirkstoffe („cut-off“-Kriterien) hervorstreichen.

Betreffend der „Vergleichenden Bewertung“ ist bereits in der EU-Verordnung festgeschrieben, dass eine Substitution von bestimmten Wirkstoffen nur dann durchzuführen ist, wenn u.a. keine „wesentlichen oder praktischen Nachteile“ zu erwarten sind. Dieser Grundsatz hat auch im *EPPO-Guidance-Dokument PP 1/271 on comparative assessment* (EPPO 2011) Einzug gehalten, nach dem die vergleichende Bewertung durchgeführt werden wird. Die Liste der Wirkstoffe, die als Substitutionskandidaten eingestuft wird, wird übrigens erst Ende 2013 fixiert werden. Zusammenfassend kann festgehalten werden, dass es aus jetziger Sicht nicht zu erwarten ist, dass die Vergleichende Bewertung gravierende Auswirkungen auf die Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln bzw. auf die Möglichkeit der Krankheits- und Schädlingsbekämpfung insbesondere im Getreidebau hat.

#### Ausschlusskriterien

Wesentlich dramatischere Auswirkungen auf die Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln könnten die sog. Ausschlusskriterien für Wirkstoffe beinhalten. Wirkstoffe, die die nachfolgenden Eigenschaften aufweisen, erhalten keine Genehmigung im Sinne der EU-VO 1107/2009. Damit ist keine Zulassung von Pflanzenschutzmitteln mit diesen

<sup>1</sup> AGES, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Pflanzenschutzmittel, Spargelfeldstraße 191, 1220 WIEN

\* Ansprechpartner: Gottfried BESENHOFER, gottfried.besenhofer@ages.at

Wirkstoffen möglich. Ausschlusskriterien für Wirkstoffe gem. EU-VO 1107/2009:

- Mutagene Stoffe der Kategorie 1 oder 2 (M1 oder 2)
- Karzinogene Stoffe der Kategorie 1 oder 2 (C1 oder 2), es sei denn die Exposition des Menschen ist unter realistisch anzunehmenden Verwendungsbedingungen vernachlässigbar
- Reproduktionstoxische Stoffe der Kategorie 1 oder 2 (R1 oder 2), es sei denn die Exposition des Menschen ist unter realistisch anzunehmenden Verwendungsbedingungen vernachlässigbar
- Stoffe die endokrinschädliche Eigenschaften besitzen, es sei denn die Exposition des Menschen ist unter realistisch anzunehmenden Verwendungsbedingungen vernachlässigbar
- POPs (persistente organische Schadstoffe)
- PBT (persistent, bioakkumulativ, toxisch)
- vPvB (sehr persistent, sehr bioakkumulativ)

Im Kontext Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln ist insbesondere das Kriterium „endokrinschädlich“ in den Fokus gerückt. Hier steht die gesamte Wirkstoffgruppe der Azole im Verdacht, in den Hormonhaushalt einzugreifen und damit unter dieses Kriterium zu fallen.

Die Gruppe der Azole ist insbesondere im Getreidebau eine wichtige Wirkstoffgruppe mit breiter Wirkung gegen Blatt-, Fuß- und Ährenkrankheiten. Azole finden weiters breite Anwendung in der Saatgutbehandlung im Getreide. In den letzten Monaten und Jahren wurden zahlreiche Abschätzungen und Modellrechnungen zur Bedeutung der Wirkstoffgruppe der Azole und möglichen Verlusten bei Wegfall oder teilweisen Wegfall dieser Wirkstoffgruppe angestellt. Die Bandbreite der Einschätzungen liegt dabei zwischen 5 und 25% Ertragsverluste für den Getreide-, Ölsaaten und Zuckerrübenanbau in Europa.

Festgehalten werden muss, dass die Kriterien, die dazu führen, einen Wirkstoff als endokrinschädlich einzustufen, derzeit noch in Ausarbeitung begriffen sind und erst Ende 2013 veröffentlicht werden. Grundsätzlich kommen die Ausschlusskriterien nur bei neuen Wirkstoffen bzw. Neuanträgen zur Genehmigung zur Anwendung. Für bereits genehmigte Wirkstoffe bleibt die Genehmigung aufrecht, die Ausschlusskriterien kommen dann erst bei der Neubewertung (eine Genehmigung wird im Normalfall für 10 Jahren ausgesprochen) zur Anwendung; d.h. sollten die Ausschlusskriterien so streng ausgelegt werden, dass alle Azolwirkstoffe als endokrinschädlich eingestuft werden, so würden bereits genehmigte Azolwirkstoffe noch am Markt bleiben. Der Wirkstoff Prothioconazol wäre beispielsweise etwa noch bis 2018 verfügbar, die Wirkstoffe Epxiconazol bzw. Tebuconazol noch bis ins Jahr 2019.

## Schlussfolgerungen

Die möglichen Auswirkungen der neuen Rahmenbedingungen im Pflanzenschutz können abschließend wie folgt abgeschätzt werden: von der „Vergleichenden Bewertung“ im Sinne der EU-VO 1107/2009 sind aus derzeitiger Sicht kaum negative Einflüsse auf die Verfügbarkeit von Pflanzenschutzmitteln bzw. die Bekämpfbarkeit von Krankheiten- und Schädlingen in wichtigen Ackerbaukulturen zu erwarten. Für die Relevanz der in der EU-VO 1107/2009 enthaltenen Ausschlusskriterien für Wirkstoffe wird die entsprechende Definition bzw. Auslegung des Begriffes „hormonell wirksam“ maßgeblich sein, die Ende 2013 veröffentlicht wird.

## Literatur

EPPO, 2011: Guidance on comparative assessment. European and Mediterranean Plant Protection Organization, PP 1/271. EPPO Bull 41, 256-259.

## Use of beneficial microorganisms for crop improvement

Friederike Trognitz<sup>1\*</sup>, Birgit Mitter<sup>1</sup>, Naveed Muhammad<sup>1</sup>, Günter Brader<sup>1</sup> and Angela Sessitsch<sup>1</sup>

### Abstract

Plants live in close relationship with microorganisms and can have a neutral, beneficial or destructive interaction with the plant. Plant beneficial microorganisms stimulate the plant to resist stresses during developmental stages and can occupy niches inside the plant, which are in concurrence with pathogens, and deleterious microorganisms may be used for the biocontrol of weeds. Plant-associated microbial communities are essential for growth parameters like plant nutrition, resistance to biotic and abiotic stresses, plant survival and distribution. *Burkholderia phytofirmans* strain PsJN is a plant growth-promoting bacterium, able to establish both rhizosphere and endophytic populations in a wide variety of plants, including potato, tomato, maize, peat moss and grapevines and stimulates plant growth and plant immune defense in many of its host plants. Several experiments were conducted on maize, pepper and potato plants inoculated with PsJN and the results obtained on its plant growth-promoting effects are reviewed in this report.

### Keywords

Biocontrol, endophytes, plant growth promotion

### Introduction

In general, agricultural systems are intensive in regard to the requirement of fertilizers, pesticides and water. Sustainable agriculture is based on three main goals: environmental health, economic profitability, and social and economic equity. Microorganisms are important players in a healthy production system and can aid in the development of more sustainable agricultural systems. Like the human body also plants host millions of bacteria living inside or around the plants. Beside pathogens, which can destroy plants completely, many non-pathogenic and mostly beneficial microorganisms are associated with plants. The rhizosphere is a hot spot of microbial diversity and activity due to the secretion of root exudates, which serve as a source of nutrients and attract microorganisms. Root exudates play an important role in signaling and developing microbial communities in different compartments of plants. As different plant species produce different root exudates, they are usually associated with different microbial communities (BERG and SMALLA 2009). Inside plants, endophytes derived from the root environment, thrive on plant compounds and systematically colonize plant tissues (RASCHKE et al. 2006a,b, COMPANT et al. 2010, REINHOLD-HUREK and HUREK 2011). In return, plant-associated microbes may enhance plant growth

by several activities such nutrient acquisition and uptake (N fixation, P and Fe mobilization) as well as synthesis of plant hormones and vitamins. Furthermore, these microbiota improve plant health by out-competing invading or antagonizing or by induction of stress resistance.

The plant-growth promoting *Burkholderia phytofirmans* type strain PsJN (SESSITSCH et al. 2005) isolated from *Glomus vesiculiferum*-infected onion roots (NOWAK et al. 1998) proved to be a potent plant growth promoter (CONN et al. 1997, NOWAK 1998). PsJN developed both endophytic and epiphytic populations on potato, tomato, maize, peat moss and grapevines (FROMMEL et al. 1991, PILLAY and NOWAK 1997, COMPANT et al. 2005, 2008). Biotization with PsJN of *in vitro* potato and other vegetable plants frequently enhanced plant vigor and stress tolerance (LAZAROVITS and NOWAK 1997, NOWAK 1998, NOWAK et al. 2004). Besides stimulating plant growth in a cultivar-dependent manner (BENSALIM et al. 1998, PILLAY and NOWAK 1997), PsJN can induce developmental changes in the host (FROMMEL et al. 1991) that can enhance its water management properties (LAZAROVITS and NOWAK 1997) and also disease resistance (STEWART 1997, SHARMA and NOWAK 1998, AIT BARKA et al. 2002). Plants of specific potato cultivars had larger root systems and developed stolons with tubers earlier than their non-biotized counterparts (DUNBAR 1997). Both nature and magnitude of the plant growth promoting effects vary for unknown reasons, not only across different plant species but also among individual cultivars of one species (CONN et al. 1997, PILLAY and NOWAK 1997, BENSALIM et al. 1998).

Agriculture faces new trends in the last years. Due to the increase in the world population a high demand on food, feed, fiber and renewable raw material is needed, produced on less arable land. Additionally the demand on high quality, healthy and affordable food by the middle-class populations in developing countries is one of the driving force in agriculture production. The requirement of renewable feedstock as alternative energy sources is a new sector in agriculture. To achieve the challenges in agriculture production it is necessary to re-examine many of the existing approaches that include the use of chemical fertilizers, herbicides, fungicides, and insecticides.

### Beneficial microorganisms for plant growth promotion

Beneficial microorganisms inhabit the rhizosphere or plant interior and may promote plant growth by several mecha-

<sup>1</sup> Austrian Institute of Technology, Department of Health and Environment, Konrad Lorenz Straße 24, A-3430 TULLN

\* Corresponding author: Friederike TROGNITZ, friederike.trognitz@ait.ac.at

nisms. One of the best studied mechanisms is the supply of nutrients like nitrogen, iron and phosphorus (GLICK 2012). But also the level of phytohormones can be modulated by plant growth-promoting bacteria (PGPB). PGPB can influence hormone levels in the plant leading to better stress tolerance in the plant. Furthermore, several phytohormones may be produced by the bacteria like cytokinins, gibberellins, auxins and ethylene.

*Burkholderia phytofirmans* strain PsJN is one of the best studied plant growth-promoting bacteria. It produces siderophores, auxin and shows 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase activity. ACC deaminase can cleave the plant ethylene precursor ACC, and thereby lower the level of ethylene in a developing or stressed plant (GLICK 2005). Using PsJN as plant growth-promoting endophyte several crop plants were inoculated in the greenhouse. Table 1 shows the maize cob weight and dry weight of two cultivars inoculated with PsJN. As comparison non-inoculated plants were used. Due to the inoculation about 20% more yield was obtained due to inoculation in the greenhouse. The same effect was also seen for other cultivars like potato and pepper. In potato and maize we observed different responses to inoculation in different cultivars. This indicates that the plant response to inoculation is genetically controlled.

**Table 1: Maize yield of two cultivars inoculated with PsJN compared to the non-inoculated control**

Cultivar	Maize cob fresh weight (in % to control)	Maize plant dry weight (in % to control)
1	123	125
2	137	130

Not only plant growth is influenced by endophytes but also flowering time, germination rates and resistance to abiotic stress. After inoculation with PsJN, maize flowered 5 to 10 days earlier as compared to control plants. The germination rate of maize inoculated with PsJN was 10% higher and the effect could be seen in 2 different cultivars. These traits have a high agronomic importance and are major breeding goals. To use endophytes under field conditions suitable application technologies have to be developed in order to ensure that endophytes are able to colonize field-grown plants and mediate beneficial effects.

## Beneficial microorganism as biocontrol agents

Pest and disease are the major threat in plant production. It is estimated that plant diseases annually cause an 11 to 16% loss of rice, wheat, corn, and potato harvests. For example crop losses due to late blight in potato and its control are estimated to cost worldwide USD 3.25 billion annually, USD

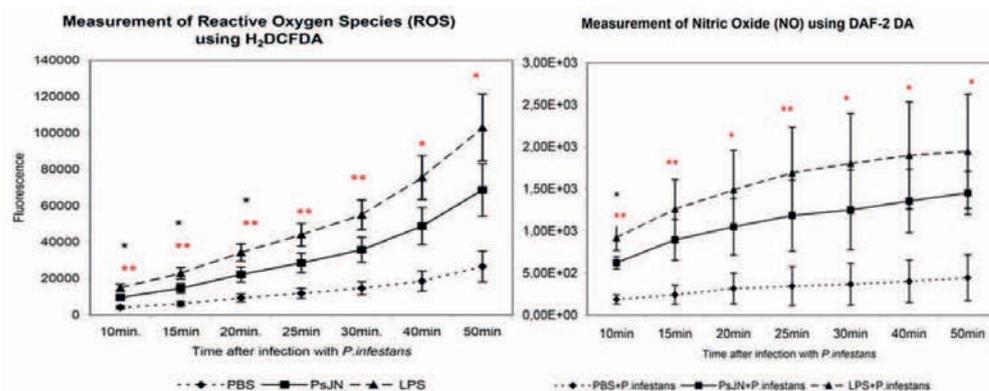
750 million (25%) are being spent on fungicides (GILB, CIP, Lima, Peru; <http://www.cipotato.org/gilb/>). To control diseases in the year 2003 over 219 662 t of plant protection products were used in the EU (FAO). Of these products 49% are used as fungicides and 10% as insecticides. The amounts spent on a global scale reached in 2007/2008 a value of USD 405 billion (ANDREWS et al. 2012).

There is a large body of literature describing potential uses of plant-associated bacteria as agents stimulating plant growth and managing soil and plant health (see review by COMPANT et al. 2005). Bacteria are able to prevent or diminish the effect of deleterious pathogens by direct or indirect manipulation of pathogens. Certain bacteria trigger a phenomenon known as induced systemic resistance (ISR), which is phenotypically similar to systemic induced resistance. The induction of resistance mechanism by the beneficial microorganism brings the plant to a status where it is able to mobilize pathogen defense much faster.

We tested PsJN and its lipopolysaccharides (LPS) on potato leaves for the ability to trigger a faster immune reaction against late blight. For the experiment the true seed potato variety MFII was grown in the greenhouse. One leaf per potato plant was infiltrated with PsJN, its LPS or with buffer as control. Small plantlets were collected and inoculated with a *Phytophthora infestans* suspension or PBS buffer and nitric oxide (NO) and reactive oxygen species (ROS) were measured using online detection methods.

ROS are important signaling molecules that control processes such as pathogen defense, programmed cell death and stomatal functions. Accumulation of ROS in plant cells can result in the formation of the hypersensitive response (HR) and cell wall cross-linking, as well as the induction of the expression of defense-related genes. NO serves as an important signal in plants and animals. Generation of the NO burst is a key feature of the plant defense response following pathogen recognition.

Small leaf stipules from PsJN, LPS and control plants were collected and immersed in *P. infestans* or PBS medium. After 30 min the leaves were transferred to a buffer containing 2',7'-dihydrodichlor-fluorescein-diacetate (H2DCFDA) for ROS detection or 4,5-Diaminofluorescein diacetate (DAF-2 DA) for NO detection. ROS and NO were rapidly increased



**Figure 1: Production of ROS and NO during the interaction with *Phytophthora infestans* in leaves primed with PsJN, LPS or PBS.** ROS and NO were rapidly increased after challenging with the pathogen *P. infestans* in the primed leaves with PsJN and LPS compared to the control leaves (PBS). The increase in NO and ROS was faster in the leaves primed with PsJN than in LPS primed leaves.

after challenging with the pathogen *P. infestans* in the primed leaves with PsJN and LPS (Figure 1) compared to control leaves (PBS), but the increase in NO and ROS was faster in leaves primed with PsJN than by LPS treatment. The results showed that PsJN is able to prime the plant in order burst the defense reaction after a pathogen attacks the plant.

## Microorganisms as bio-herbicides

In Europe 38% of plant protection products are used for weed control. Weeds produce the highest potential yield loss in agriculture with 34% (OERKE 2006). Studies on bacteria for bio-control against weeds started around 1990. Practical application of bacteria to agriculture could contribute to biological weed management systems that have a lower impact on the environment than conventional systems and reduce the risk of pesticide residuals in the food chain by reducing inputs of herbicides. In the coming years several herbicides will be taken from the market because of their negative effects on soil, water and human health. In the past several plant-associated bacteria have shown negative effects on growth of specific plants (for a review see KREMER and KENNEDY 1996). Among these deleterious bacteria are *Pseudomonas*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Citrobacter* and *Achromobacter* strains (KREMER et al. 1990). Metabolites such as auxin and hydrogen cyanide produced by these deleterious bacteria are toxic at high concentrations. Several *Pseudomonas* species and strains showed bio-herbicidal activity against weeds in greenhouses and field tests. For example *P. fluorescens* D7 was active against downy brome (*Bromus tectorum*), *P. fluorescens* LS102 and LS174 against leafy spurge (*Euphorbia esula*) and *P. fluorescens* BRG100 against green foxtail (*Setaria viridis*) (CALDWELL et al. 2012). Host range tests with several strains active against downy brome showed that the effect of the rhizobacteria and their secondary metabolites are host-specific. Tests conducted on non-target hosts (spring and winter wheat) showed no or limited detrimental effects on the plant and in some cases improvement of the growth of the non-target plant was observed (see review by BOYETCHKO 1997).

## References

- AIT BARKA E, GOGNIES S, NOWAK J, AUDRAN JC, BELARBI A, 2002: Inhibitory effect of endophyte bacteria on *Botrytis cinerea* and its influence to promote the grapevine growth. *Biol Control* 24, 135-142.
- ANDREWS M, CRIPPS MG, EDWARDS GR. 2012: The potential of beneficial microorganisms in agricultural systems. *Ann Appl Biol* 160, 1-5.
- BENSALIM S, NOWAK J, ASIEDU SK, 1998: A plant growth promoting rhizobacterium and temperature effects on performance of 18 clones of potato. *Am J Potato Res* 75, 145-152.
- BERG G, SMALLA K, 2009: Plant species and soil type cooperatively shape the structure and function of microbial communities in the rhizosphere. *FEMS Microbiol Ecol* 68, 1-13.
- BOYETCHKO SM 1997: Principles of biological weed control with microorganisms. *HortSci* 32, 201-205.
- CALDWELL CJ, HYNES RK, BOYETCHKO SM, KORBER DR, 2012: Colonization and bioherbicidal activity on green foxtail by *Pseudomonas fluorescens* BRG100 in a pesta formulation. *Can J Microbiol* 58, 1-9.
- COMPANT S, REITER B, SESSITSCH A, NOWAK J, CLEMENT C, AIT BARKA E, 2005: Endophytic colonization of *Vitis vinifera* L. by plant growth promoting bacterium *Burkholderia* sp. strain PsJN. *Appl Env Microbiol* 71 1685-1693.
- COMPANT S, NOWAK J, COENYE T, CLÉMENT C, AIT BARKA E, 2008: Diversity and occurrence of *Burkholderia* spp. in the natural environment. *FEMS Microbiol Rev* 32, 607-626.
- COMPANT S, CEMENT C, SESSITSCH A 2010: Plant growth-promoting bacteria in the rhizo- and endosphere of plants: Their role, colonization, mechanisms involved and prospects for utilization. *Soil Biol Biochem* 42, 669-678.
- CONN KL, NOWAK J, LAZAROVITS G, 1997: A gnotobiotic bioassay for studying interactions between potatoes and plant growth-promoting rhizobacteria. *Can J Microbiol* 43, 801-808.
- DUNBAR C, 1997: Utilization of seaweed extract and plant growth promoting rhizobacterium in greenhouse production of potato minitubers. M.Sc. thesis, Dalhousie University, Halifax, Canada.
- FROMMEL MI, NOWAK J, LAZAROVITS G, 1991: Growth enhancement and developmental modification of *in vitro* potato (*Solanum tuberosum* ssp. *tuberosum*) as affected by nonfluorescent *Pseudomonas* sp. *Plant Physiol* 96, 928-936.
- GLICK BR, 2005: Modulation of plant ethylene levels by the bacterial enzyme ACC deaminase. *FEMS Microbiol Lett* 251, 1-7.
- GLICK BR, 2012: Plant growth-promoting bacteria: Mechanisms and applications. *Scientifica* 2012, ID963401. DOI: 10.6064/2012/963401
- KREMER RJ, BEGONIA MFT, STANLEY L, LANHAM EZ, 1990: Characterization of rhizobacteria associated with weed seedlings. *Appl Env Microbiol* 56, 1649-1655.
- KREMER RJ, KENNEDY AC 1996: Rhizobacteria as biocontrol agents of weeds. *Weed Technol* 10, 601-609.
- LAZAROVITS G, NOWAK J. 1997: Rhizobacteria for improvement of plant growth and establishment. *HortSci* 32, 188-192.
- NOWAK J, 1998: Benefits of *in vitro* 'biotization' of plant tissue culture plants with microbial inoculants. *In Vitro Cell Dev Biol Plant* 34, 122-130.
- NOWAK J, SHARMA VK, A'HEARN E. 2004. Endophyte-induced enhancement of transplant stress resistance and yield in potato and vegetables. *Acta Hort* 631, 253-263.
- OERKE EC, 2006: Crop losses to pests. *J Agric Sci* 144, 31-43.
- PILLAY VK, NOWAK J, 1997: Inoculum density, temperature, and genotype effects on *in vitro* growth promotion and epiphytic and endophytic colonization of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) seedlings inoculated with a pseudomonad bacterium. *Can J Microbiol* 43, 354-361.
- RASCHE F, HÖDL V, POLL C, KANDELER E, GERZABEK MH, VAN ELSAS JD, SESSITSCH A, 2006a: Rhizosphere bacteria affected by transgenic potatoes with antibacterial activities in comparison to effects of soil, wildtype potatoes, vegetation stage and pathogen exposure. *FEMS Microbiol Ecol* 56, 219-235.
- RASCHE F, VELVIS H, ZACHOW C, BERG G, VAN ELSAS JD, SESSITSCH A, 2006b: Impact of transgenic potatoes expressing antibacterial agents on bacterial endophytes is comparable to effects of wildtype potatoes and changing environmental conditions. *J Appl Ecol* 43, 555-566.
- REINHOLD-HUREK B, HUREK T, 2011: Living inside plants: bacterial endophytes. *Curr Opin Plant Biol* 14, 435-443.
- SESSITSCH A, COENYE T, STURZ AV, VANDAMME P, AIT BARKA E, FAURE D, REITER B, GLICK BR, WANG-PRUSKI G, NOWAK J, 2005: *Burkholderia phytofirmans* sp. nov., a novel plant-associated bacterium with plant beneficial properties. *Int J Syst Evol Bacteriol* 55, 1187-1192.
- SHARMA V, NOWAK J, 1998: Enhancement of *Verticillium* wilt resistance in tomato transplants by *in vitro* co-culture of seedlings with a plant growth promoting rhizobacterium (*Pseudomonas* sp. strain PsJN). *Can J Microbiol* 44, 528-536.
- STEWART AH, 1997: Suppression of *Verticillium* wilt in potatoes with a plant growth promoting rhizobacterium. M.Sc. thesis, Dalhousie University, Halifax, Canada.



# Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag bei Sojabohnen (*Glycine max*)

## Germination, seed vigour, field emergence and yield of soybean (*Glycine max*)

Benno Voit<sup>1</sup>\*, Georg Salzeder<sup>1</sup> und Berta Killermann<sup>1</sup>

### Abstract

For soybean with a higher demand on temperature the germination test is not sufficient for sowing. The germination test is done under optimal and standardized conditions. But in the fields there are not always optimal conditions, e.g. low temperatures or wet soil. Therefore, a further test is urgently needed with tightened conditions to determine the seed vigour. This test is the so-called „Cold Test“.

At present in the ISTA rules a vigour method for soybeans does exist, the so-called conductivity test. The big disadvantage of this conductivity method is that the result is reported as  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  and not as percentage germination, i.e. the result can not be used for calculating the sowing rate. Because maize has similar demands on temperature conditions the maize cold test was used to determine the vigour in this study. By means of field trials using different seed qualities (high, medium and low germination values) it was tested if the results of the cold tests are more related to field emergence than the germination values.

### Keywords

Cold test, field emergence, germination, soybean, seed vigour

### Einführung

Der Preis für Sojaschrot ist in den letzten beiden Jahren von 325 auf ca. 500 € t<sup>-1</sup> angestiegen. Deshalb überlegen vor allem Viehhalter, ob sie nicht im eigenen Betrieb Sojabohnen anbauen. Hinzu kommt, dass zunehmend mehr Abnehmer von tierischen Produkten den Einsatz von GVO freiem Sojaschrot verlangen. Der Sojabohnenanbau in Bayern bewegt sich mit ca. 3000 ha noch auf niedrigem Niveau. Dies liegt unter anderem daran, dass die Sojabohne als Kurztagspflanze sehr hohe Wärmeansprüche hat und die Landwirte befürchten, dass die Sojabohnen nicht reif werden. Die Probleme können aber bereits im Frühjahr beginnen. Nicht in jedem Frühjahr liegen die Bodentemperaturen bei 15°C und darüber, die für einen problemlosen Feldaufgang not-

wendig sind. In Jahren mit kaltem oder nasskaltem Frühjahr werden daher besondere Ansprüche an die Saatgutqualität gestellt. Das heißt Saatgut mit einer hohen Triebkraft ist notwendig. Für den Anbauer stellt sich bei der Berechnung der Aussaatmenge die Frage, ob als Berechnungsgrundlage die Keimfähigkeit oder die Triebkraft verwendet werden soll. Um die Frage beantworten zu können wurden Labor- und Feldversuche durchgeführt.

### Material und Methoden

#### Keimfähigkeit

Im Saatgutlabor wird die Keimfähigkeit im sterilen Quarzsand bei 25°C unter standardisierten Bedingungen festgestellt. Die gesetzlich vorgeschriebene Mindestkeimfähigkeit bei Sojabohnen beträgt 80% (RUTZ und FREUDENSTEIN 2010).

#### Triebkraft

Die Triebkraftprüfung ist bei Sojabohnen gesetzlich nicht vorgeschrieben. Es ist jedoch ein großes Risiko das Auflaufverhalten bei kalten oder nasskalten Bedingungen nicht zu kennen. Für Sojabohnen gibt es eine validierte Triebkraftmethode, den sogenannten ISTA Leitfähigkeitstest (ISTA 2012). Dazu werden Samen in Bechergläser eingeweicht (*Abbildung 1*). Anschließend wird die elektrische Leitfähigkeit des Quellwassers gemessen. Der Messwert wird in  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  ausgedrückt und erlaubt eine Einschätzung für die Triebkraft (*Tabelle 1*).

Der Vorteil dieses Verfahrens besteht darin, dass für die Prüfung keine Erde benötigt wird. In verschiedenen Ringuntersuchungen hat sich die Erde immer wieder als der Faktor herausgestellt, der am schwierigsten bzw. nicht standardisierbar ist. Der Leitfähigkeitstest ist ein physikalisches Messverfahren und daher objektiv. Ein weiterer Vorteil ist, dass das Ergebnis bereits nach 2 Tagen vorliegt. Die Nachteile vom Leitfähigkeitstest sind, dass das Gerät vor jeder Messung kalibriert werden muss. Für die Untersuchung ist eine definierte Wasserqualität erforderlich. Zudem muss vor jeder Messung der Wassergehalt der zu untersuchenden

<sup>1</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Lange Point 6, Labor 2, D-85354 FREISING

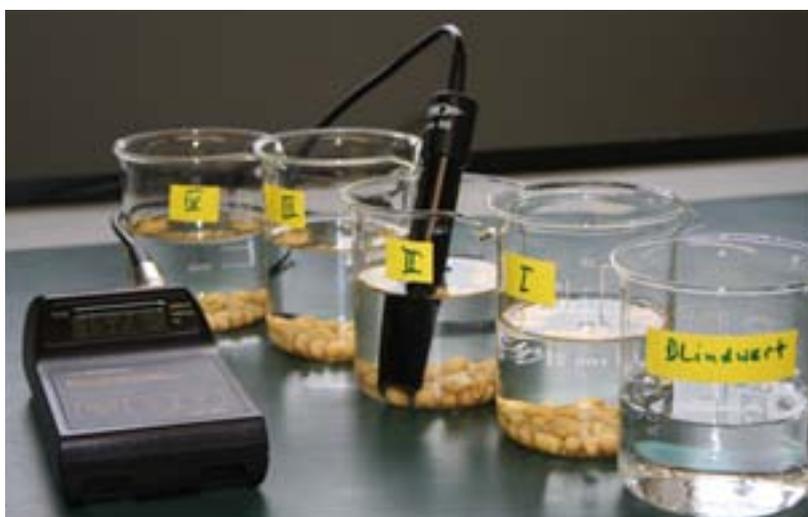
\* Ansprechpartner: Benno VOIT, Benno.Voit@LfL.bayern.de

**Tabelle 1: Leitfähigkeitsmesswerte und deren Übertragung auf die Soja-Saatgutpartien****Table 1: Electrical conductivity values and description of soybean seed quality**

Messwert ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Beschreibung
<25	Saatgut ist für frühen Saattermin oder für ungünstige Witterungsbedingungen geeignet
25-29	Saatgut ist bedingt geeignet für frühe Saat. Es ist ein Risiko diese Partie unter ungünstigen Bedingungen auszusäen
30-43	Saatgut ist weder für eine Fröhsaat noch für ungünstige Bedingungen geeignet
>43	Saatgut ist für die Aussaat ungeeignet

Probe bestimmt werden. Falls der Wassergehalt nicht im Bereich zwischen 10 und 14% liegt, muss eine Nachbefeuchtung bzw. Nachbefeuchtung erfolgen. Der größte Nachteil ist, dass das Ergebnis in  $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$  dargestellt wird und nicht in Keimprozent und daher für die Berechnung der Aussaatmenge nicht herangezogen werden kann.

Als weitere Methode für die Bestimmung der Triebkraft wurde die Kalttestprüfung für Mais verwendet (ISTA 1995). Anstelle in Erdrollen wurden die Körner in großen Schalen, die mit Ackererde gefüllt waren, zum Keimen gebracht. Eine Woche bei 10°C, die zweite Woche bei 25°C (VOIT et al. 2010). Anschließend erfolgte die Beurteilung der Keimlinge wie bei der Keimprüfung. Da Triebkraftversuche für sich allein nicht ausreichend sind, wurden parallel dazu Feldversuche durchgeführt um zu sehen, wie hoch der tatsächliche Feldaufgang ist.



**Abbildung 1: Bestimmung der Leitfähigkeit nach ISTA. Eingeweichte Samen (4x50) und der Blindwert**

**Figure 1: Electrical conductivity test according to ISTA. Soaked seeds (4 replicates with 50 seeds) and control variant**

### Feldversuche

Dazu wurden zwei für Soja günstige Standorte ausgewählt. Der erste Standort Oberhummel lag im Isartal in der Nähe von Freising. Die durchschnittliche Jahrestemperatur beträgt knapp 8°C und die Niederschlagsmenge liegt bei 800 mm.

Beim zweiten Standort Rotthalmünster handelt es sich um eine Gunstlage im Rottal bei 8°C durchschnittlicher Jahrestemperatur und 850 mm Niederschlag. Ausgesät wurden 70 Körner pro m<sup>2</sup> bei einer Parzellengröße von 10 m<sup>2</sup> und jeweils 4 Wiederholungen. Für die Ertragsermittlung wurde die gesamte Parzelle geerntet und gewogen.

### Ergebnisse und Diskussion

In den Versuchen wurden 2 Sorten mit jeweils 3 unterschiedlichen Saatgutqualitäten geprüft. Sorte 1, eine sehr frühe Sorte mit 3 Saatgutpartien, die eine Keimfähigkeit zwischen 78 und 92% aufwiesen. Die Sorte 2, etwas später abreifend, mit ebenfalls 3 Saatgutpartien mit Keimfähigkeiten zwischen 79 und 93%. Bei der Sorte 1 lagen die Triebkraftwerte nach dem Kalttestverfahren von Mais um ca. 6% unter den Keimfähigkeitswerten (Tabelle 2). Die Differenz zur Keimfähigkeit war bei der Sorte 2 mit ca. 10% größer als bei der Sorte 1. Erstaunlich war, dass die Differenz zur Keimfähigkeit bei allen Saatgutqualitäten in etwa gleich war.

**Tabelle 2: Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag von 2 Sojabohnensorten mit jeweils 3 unterschiedlichen Saatgutqualitäten auf den Standorten Oberhummel und Rotthalmünster, 2011**

**Table 2: Germination, seed vigour, field emergence and yield of 2 soybean varieties with 3 different seed quality levels at the sites Oberhummel and Rotthalmünster in 2011**

Sorte	Keimfähigkeit (%)	Triebkraft (%)	Feldaufgang (%)		Ertrag (dt·ha <sup>-1</sup> )	
			Oberhummel	Rotthalmünster	Oberhummel	Rotthalmünster
1	92	86	90	66	38	37
1	83	78	76	61	37	41
1	78	71	69	68	37	40
2	93	83	84	56	27	39
2	86	77	80	54	27	39
2	79	66	70	47	26	33

**Tabelle 3: Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag von 2 Sojabohnensorten mit jeweils 3 unterschiedlichen Saatgutqualitäten auf dem Standort Oberhummel, 2012****Table 3: Germination, seed vigour, electrical conductivity, field emergence and yield of 2 soybean varieties with 3 different seed quality levels at Oberhummel in 2012**

Sorte	Keimfähigkeit (%)	Triebkraft (%)	Leitfähigkeitstest ( $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}\cdot\text{g}^{-1}$ )	Feldaufgang (%)	Ertrag ( $\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$ )
1	90	86	21	81	50
1	88	80	23	72	51
1	82	76	19	80	52
2	85	69	28	78	53
2	85	69	23	66	56
2	81	69	29	73	56

Insbesondere hätte man von der schlechteren Saatgutqualität deutlich niedrigere Triebkraftwerte erwartet.

Die Aussaat 2011 am Standort Oberhummel erfolgte am 20. April, während in Rotthalmünster bereits eine Woche früher angebaut wurde. Anfang Mai waren die Sojabohnen aufgelaufen und der Feldaufgang wurde ermittelt. Der Feldaufgang am Standort Oberhummel lag sehr nahe an den Triebkraftwerten. Am Standort Rotthalmünster war der Feldaufgang deutlich niedriger, z.T. um mehr als 20% im Vergleich zu Oberhummel. Ursache dafür war die frühe Saat. Hier zeigt sich sehr deutlich der hohe Wärmeanspruch bei der Keimung. Eine zu frühe Saat führt zu einem deutlich niedrigeren Feldaufgang. Umso überraschender war dann das sehr gute Druschergebnis am Standort Rotthalmünster. Der Ertrag war gleich hoch wie am Standort Oberhummel. Auch zwischen den unterschiedlichen Saatgutqualitäten bei der Sorte 1 konnten keine Ertragsunterschiede festgestellt werden. Anders war die Situation bei der Sorte 2. Zwischen den beiden Standorten Rotthalmünster und Oberhummel wurden sehr große Ertragsunterschiede festgestellt. Besonders auffallend war der niedrige Ertrag am Standort Oberhummel. Ursache dafür war, dass Mitte Juni zur Blütezeit die Temperaturen unter  $15^{\circ}\text{C}$  lagen und die Sojabohnen die Blüten in diesem Zeitraum abwarfen. Dies führte zu dem Ertragsrückgang. In Rotthalmünster, einer Gunstlage des Rottals, kam es nicht zum Blütenabwurf und daher auch zu keinem Ertragseinbruch. Die Saatgutpartie mit der niedrigen Saatgutqualität und einem Feldaufgang von nur 47% lag im Ertrag deutlich unter den Partien mit den besseren Saatgutqualitäten. 2012 wurde der Versuch im 2. Jahr angebaut. Die Triebkraftwerte bei der Sorte 1 lagen wie 2011 um ca. 6% unter den Keimergebnissen (Tabelle 3).

Bei der Sorte 2 waren die Triebkrafteergebnisse um mehr als 10% unter den Keimergebnissen. Zum Vergleich wurde die Triebkraft 2012 zusätzlich mit dem Leitfähigkeitstest bestimmt. Die Triebkraft wurde mit diesem Verfahren bei den Proben der Sorte 1 höher eingeschätzt als bei der Sorte 2. Das deckt sich mit den Ergebnissen der Triebkraftbestimmung nach dem Mais Kalttestverfahren. Die Versuche konnten Ende April bei günstigen, sehr warmen, aber eher trockenen Bedingungen ausgesät werden. Am Standort Oberhummel waren die Sojabohnen bereits nach einer

Woche aufgelaufen. Die Triebkraft war nicht besonders gefordert. Der Feldaufgang am Standort Rotthalmünster war mit ca. 50% völlig unbefriedigend. Auch nach dem Regen verbesserte sich der Feldaufgang nicht wesentlich, sodass der Standort Rotthalmünster aus der Wertung herausgenommen wurde. Der Feldaufgang in Oberhummel lag 2012, wie auch 2011, näher an den Triebkraftwerten als an den Keimfähigkeitswerten. Die Unterschiede zwischen den Saatgutqualitäten bei den Saatgutpartien der Sorte 1 als auch bei den Saatgutpartien der Sorte 2 waren gering, sodass keine großen Unterschiede im Feldaufgang erwartet werden konnten und auch nicht auftraten. Der Feldaufgang war bei der Sorte 1 höher als bei der Sorte 2. Beim Ertrag war es umgekehrt.

## Zusammenfassung

Die Triebkraftmethode von Mais scheint nach ersten Versuchen auf Sojabohnen übertragbar zu sein. Mit der Triebkraftuntersuchung lassen sich schwache Saatgutpartien erkennen, wobei der Ertragsabfall dieser Partien geringer war als erwartet. Es hat sich gezeigt, dass der gesamte Vegetationsverlauf den größten Einfluss auf das Ertragsgeschehen hat. Der Feldaufgang liegt deutlich näher an den Triebkraftwerten als an den Keimfähigkeitswerten, sodass es zweckmäßig ist, bei der Berechnung der Aussaatmenge auf die Triebkraftwerte zurückzugreifen. Dies ist allerdings nur möglich, wenn die Triebkraftbestimmung nach dem Kalttestverfahren in Erde durchgeführt wurde, da das Ergebnis in Keimprozent ausgedrückt wird. Beim Leitfähigkeitstest trifft dies nicht zu.

## Literatur

- ISTA, 2012: International rules for seed testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf.
- ISTA, 1995: Handbook of vigour test methods. International Seed Testing Association, Zürich.
- RUTZ H-W, FREUDENSTEIN H, 2010: Sorten- und Saatgutrecht, 12. Aufl. Agrimedia Verlag, Clenze.
- VOIT B, SCHNELLHAMMER R, EDER J, KILLERMANN B, 2010: Einfluss von Keimfähigkeit und Triebkraft auf den Feldaufgang von Mais. VDLUFA Schriftenreihe 66, 560-565.

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



# EU-Verordnung für Vermehrungsgut - Stand der Diskussion

## EU-Regulation on the marketing of Plant Reproductive Material - Status quo of discussion

Heinz-Peter Zach<sup>1\*</sup>

### Abstract

Twelve directives on the marketing of seed, propagating and planting material are intended to be replaced by one regulation on plant reproductive material (PRM), which should be directly applicable and binding in the Member States of the EU. In summer 2012 the European Commission has introduced a so called NON-PAPER in preparation of a legislative proposal to the European Parliament and the Council. The paper tries to summarize the provisions of the different twelve directives, but does neither contain any technical provisions nor cites any species. The Commission envisages implementing acts or delegated acts for establishing implementing provisions after having enacted the new horizontal regulation on PRM. A lot of uncertainties arise in this context. This lecture tries to analyze and summarize the changes as compared to the existing legislation and to identify possible elements of liberalization and aggravation. It states the status quo at the end of the year 2012.

### Keywords

EU-legislation, plant reproductive material, seed and plant propagating material

### Einleitung

Im Sommer 2012 sandte die Europäische Kommission ein sogenanntes NON PAPER (SANCO/2012/11820) als Erstentwurf zu Neuregelungen des Saat- und Pflanzgutverkehrs in der EU aus. Eine neue Verordnung (VO) soll die derzeit noch gültigen 12 EU-Richtlinien (RL) für Saat- und Pflanzgut (landwirtschaftliche Artengruppen, Gemüse, Wein, Obst, Zierpflanzen und Forstvermehrungsgut) ablösen, und gilt dann unmittelbar in den Mitgliedstaaten der EU. Der offizielle Vorschlag an den Rat und das Europäische Parlament soll in Kombination mit 3 anderen Verordnungen (Nachfolge-VO zur Kontroll-VO 882/2004, zur Pflanzengesundheits-RL 29/2000 und Tiergesundheit-RL) im Jahr 2013 erfolgen. Die Bestimmungen von Forstvermehrungsgut werden gesondert im Anhang analog zur bisherigen Forstvermehrungsrichtlinie Nr. 105/1999 abgehandelt. Technische Durchführungsbestimmungen sollen v.a. in „delegierten Akten“ an die EK übertragen werden. Die Registrierung der Produzenten und Händler (Operator)

und Pflanzengesundheitsregelungen erfolgen über die neue Pflanzengesundheits-VO. Quarantäne- und Qualitätsschadorganismen sollen nur mehr in der Pflanzengesundheits-VO geregelt werden. Die bisherigen Geltungsbereiche nach Kulturartengruppen und Sorten werden nicht mehr genannt.

Man rechnet, dass das ganze Rechtspaket nach Behandlung im Rat und im Europäischen Parlament nicht vor 2015/16 beschlossen wird. Nach einer dreijährigen Übergangsfrist und Erlassung aller technischen Durchführungsbestimmungen dazu ist nicht vor Ende dieses Jahrzehnts mit der vollen Umstellung des derzeitigen Rechtssystems in diesem Bereich zu rechnen.

### Voraussichtliche Änderungen im Geltungsbereich

Im Anhang des Entwurfes der Kommission werden die bisher in den 12 Verkehrsrichtlinien geregelten Arten angeführt. Für bisher nicht geregelte Arten sollen nun ähnliche Mindestanforderungen wie bisher gemäß der Zierpflanzen-RL (Kennzeichnungs- und Verpackungsvorschriften, Sortenangabe und Mindestqualitätsansprüche) gelten. Prinzipiell wird also in Zukunft Vermehrungsmaterial aller Arten Vermarktungsvorschriften unterliegen.

Nicht nur für den Binnenmarkt und Importe (Gleichstellungsbestimmungen von Saatgut aus Drittstaaten mit EU-Saatgut) sind Vermarktungsvorschriften vorgesehen. Nunmehr sollen auch für Exporte dieselben Anforderungen wie für den Binnenmarkt gelten. Es soll aber die Möglichkeit von Sondervereinbarungen mit Drittstaaten geben.

Der Geltungsbereich des Inverkehrbringens ist im NON PAPER strenger formuliert als in den alten Richtlinien. Bisher wurde nur Saatgut zum Zwecke der kommerziellen Nutzung von den Regelungen erfasst. Diese wesentliche Einschränkung würde in der neuen VO nicht mehr gelten.

Das bedeutet, dass auch Vermehrungsgut außerhalb der landwirtschaftlichen Nutzung Verkehrsregelungen unterliegt. Als neue Ausnahme vom Geltungsbereich würde allerdings die Erhaltung von Pflanzengenetischen Ressourcen (PGR) in Kombination mit Genbanken hinzukommen. Nicht mehr registrierungspflichtig sollen Abgeber von Kleinmengen an den Endnutzer sein.

<sup>1</sup> Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Refereat III/9c, Stubenring 12, A-1010 WIEN

\* Ansprechpartner: Heinz-Peter ZACH, heinz-peter.zach@lebensministerium.at

## Saatgutkategorien

Wie bisher soll zertifiziertes Vermehrungsmaterial inkl. Vermehrungsstufen sowie Standardmaterial in Verkehr gebracht werden. Bei Standardsaatgut ist keine Feldanerkennung erforderlich und somit die Produktion von Saatgut billiger. Für welche Arten welche Kategorie anwendbar sein soll, soll erst in Durchführungsbestimmungen der Kommission entschieden werden. Es gibt keine klare Abgrenzung der Kategorien nach Arten und nach Saat- und Pflanzgut. Es bestehen außerdem Unklarheiten im Hinblick auf die Verwendung der Sorte und die Anforderungen an diese (z.B. als landwirtschaftliche Art oder als Zierpflanze). Klare Aussagen gibt es nur im Hinblick auf die Kennzeichnung (Amtliches oder Firmenetikett).

## Sortenregistrierung

Die nationalen Sortenlisten und Gemeinschaftssortenregister sowie die Anforderungen an die Sortenregistrierung (DUS: Registerprüfung (*Distinctness, Uniformity, Stability*) und VCU: Landeskultureller Wert (*Value for Cultivation and Use*)) werden beibehalten. Neu hinzu kommt die Möglichkeit für die Antragsteller, ihre Sorten nach zwei Verfahren einer Gemeinschaftsregistrierung zu unterziehen (A: Gemeinschaftsverfahren; B: nationales Verfahren + Notifikation für Gemeinschaftsregister). Auch eine Registrierung von Klonen soll möglich sein. Die Führung des Gemeinschaftsregisters wird durch das Gemeinschaftliche Sortenam (CPVO) in Angers, Frankreich, übernommen. Das CPVO war bisher nur für Sortenschutzerteilungen in der EU zuständig. Gebühren sollen für das nationale und nun auch für das Gemeinschaftsregister eingehoben werden. Berufungen beim CPVO sollen im Rahmen des Gemeinschaftsverfahrens (A) einbringbar sein.

## Organisation der Qualität

Einheitlich werden Mindestanforderungen an die Firmenautorisierung im Zertifizierungsverfahren festgelegt. Firmenautorisierungen sollen nicht nur im Rahmen der Saatgutenerkennung möglich sein, sondern nunmehr auch im Rahmen des Sortenzulassungsverfahrens (sowohl für DUS als auch VCU). Risikobasierte Kontrollpläne sollen von den Behörden bei der Durchführung von *Post Certification Tests* erstellt werden.

Bisher bestand für die Mitgliedstaaten der EU die Möglichkeit strengere Anforderungen an das Inverkehrbringen zu stellen, wenn diese auch für die heimische Produktion gelten. Nunmehr schlägt die Kommission ein Ausschussverfahren für strengere als dem EU-Standard entsprechende Anforderungen in den Mitgliedstaaten vor. Das würde bedeuten, dass ein Mitgliedstaat nur mehr auf Antrag und nach „Absegnung“ im Ausschussverfahren durch die anderen Mitgliedstaaten diese Vorgangsweise wählen dürfte.

Notmaßnahmen (Gefahr in Verzug) und Ausnahmebestimmungen für nationale Verbote von Sorten werden teilweise klarer als in den bisherigen Richtlinien formuliert. Bei reduzierter Keimfähigkeit bis 5% muss Behelfssaatgut übrigens nicht mehr von der Kommission bewilligt werden.

Vorübergehende Gemeinschaftsexperimente zur Harmonisierung von Gemeinschaftsnormen sollen wieder möglich

sein, nachdem in den letzten Jahren keine von Mitgliedstaaten im Auftrag der Kommission organisierte Gemeinschaftsversuche mehr durchgeführt wurden.

## Außenhandel

Das Gleichstellungsregime für Drittstaaten soll fortgesetzt werden. Auch Exporte müssen nunmehr der vorgeschriebenen EU-Qualität entsprechen. Bilaterale Sondervereinbarungen der EU/Mitgliedsstaaten mit Drittstaaten für Exporte sollen möglich sein.

## Verschärfungen (Zusammenfassung I)

Der Regelungsbereich des Saat- und Pflanzgutverkehrs wird erweitert. Auch das Inverkehrbringen für nicht kommerzielle Zwecke und der Export sind erfasst. Der Geltungsbereich wird auf alle Arten ausgeweitet. Die Einführung eines Bewilligungsverfahrens für national strengere Produktionsbestimmungen würde bedeuten, dass Sonderbestimmungen wie z.B. zur Produktion von zertifiziertem Saatgut von Steirischem Ölkürbis extra beantragt und genehmigt werden müssten.

Auch im Sortenwesen ist neben den angekündigten Erleichterungen (one key - several doors: Sortenzulassung und Sortenschutz in einem beantragbar) nicht mit wesentlichen Verbesserungen zu rechnen. Eine Jahresgebühreneinhebung soll auch nun bei der Sortenlistung im Gemeinschaftsregister vorgesehen werden. Bisher war diese Eintragung kostenlos, da die Registrierung durch die Kommission aufgrund der Meldung der Mitgliedstaaten und nicht durch das CPVO erfolgte. Eine Sortenlistung soll in Zukunft nur mehr max. 30 Jahre möglich sein; danach wäre eine Verlängerung erforderlich. Bisher gab es keine Limitierung des Inverkehrbringens von Sorten. Wirtschaftlich wenig bedeutende, aber für die Biodiversität notwendige pflanzengenetische Ressourcen würden so verschwinden.

## Mögliche Liberalisierungen (Zusammenfassung II)

Möglicherweise wird Standardsaatgut von Gemüse auch auf andere Arten ausgedehnt (keine Feldanerkennung mehr erforderlich). Der Verweis auf noch fehlende Durchführungsakte der Kommission lässt aber noch alles offen und ungeklärt.

Ausnahmen in der Registrierung und die Befreiung von Gebühren sollen für KMU (Kleinerzeuger) vorgesehen werden. Sorten mit „öffentlich anerkannten Beschreibungen“ (ohne Feldprüfung) können national gelistet werden. Es wird außerdem keine Mengenbeschränkung für pflanzengenetische Ressourcen (PGR) geben, nur die Angabe der Ursprungsbezeichnung.

## Unklarheiten (Zusammenfassung III)

Es sind weder art(en)gruppen)spezifische Aussagen noch technische Bestimmungen enthalten (insbesondere im Hinblick auf Sortenregistrierung, Anforderungen an Sorten wie VCU).

In diesen Fällen erfolgt in der Regel der Verweis auf „delegierte Akte“ der Kommission.

Sonderbestimmungen für PGR und Saatgutmischungen davon sind nicht mehr enthalten. Allerdings bietet das NON PAPER eine ganze Reihe von Interpretationsspielräumen (Ausnahme für Kleinerzeuger, Genbanken und Austausch für Naturalzwecke). Die Ausdehnung des Anwendungsbereiches auf die nicht kommerzielle Nutzung von Vermehrungsmaterial ist neu und wurde von der Kommission nicht begründet. Für „Bedeutende Arten“ (*major species*) soll gemäß eines überarbeiteten Textes der Kommission kein Standardsaatgut mehr zulässig sein. Auch alle Gemüsearten wären davon betroffen. Das war bisher nicht der Fall. Es ist nicht nachvollziehbar, weshalb die Kommission eine Verschärfung der Produktionsbedingungen in diesem Sektor beabsichtigen sollte.

## Schlussfolgerungen

Die Nachteile überwiegen: der Regelungsbereich wird ausgeweitet; außerdem besteht mehr Rechtsunsicherheit durch unklare Formulierungen und Verweis auf „Delegierte Akte“ der Europäischen Kommission.

Die möglichen Vorteile sind aufgrund des vorliegenden Entwurfes noch nicht verifizierbar.

Die beabsichtigte Verschmelzung der Bestimmungen von Saat- und Pflanzgutrichtlinien erscheint nicht unbegrenzt möglich, da die Anforderungen an die Qualität des Vermehrungsmaterials und an die Verwendung des Sortenmaterials in den verschiedenen Sektoren (Landwirtschaft, Gemüse, Wein, Obst, Zierpflanzen und Forst) sehr unterschiedlich sind.



## Evaluation of the dominant dwarfing gene *Ddw1* with respect to its use in hybrid rye breeding

Bernd Hackauf<sup>1\*</sup>, Maria T. Goldfisch<sup>1</sup>, Dörthe Musmann<sup>1</sup>, Gilbert Melz<sup>2</sup> and Peter Wehling<sup>1</sup>

### Abstract

Winter rye (*Secale cereale* L.) is a traditional cereal in Austria and Germany with versatile uses for human and animal nutrition as well as a substrate for bioenergy production. Rye breeding aims to develop varieties with high yield potential, as well as high nutrient efficiency and robustness to environmental stresses to cope with the expected outcome of the ongoing climate change. These efforts are key to enhance the sustainability of rye growing and to keep rye competitive in modern agricultural production systems. Lodging resistance ranks among the major breeding goals to reduce yield losses in rye. The main approach to overcome lodging is a reduction of plant height by exploiting dwarfing genes. In wheat and rice the alteration of plant height by recessive dwarfing genes resulted in an increased harvest index (HI). The lesser growth of vegetative organs allowed for a differential partitioning of dry matter from non-reproductive to reproductive organs and, as a consequence, to a significant increase of grain yield. Although recessive dwarfing genes allowed to reduce plant height in rye as well (Geiger, pers. comm.), modern rye varieties do not yet reach a HI comparable to that of wheat. In Eastern European and Finnish breeding programmes the dominant dwarfing gene *Ddw1*, which has been discovered by V. D. Kobyljansky already in 1972 and which was originally named *H1* (*Humilus*) (KOBYLJANSKY 1972), has been used to improve lodging in population varieties. However, the potential of *Ddw1* to increase the HI in highly productive hybrid rye varieties has not yet been elucidated. Use of *Ddw1* in the development of homozygous dwarf inbred lines is hampered because an efficient and reliable method to distinguish homozygous and heterozygous dwarf genotypes is not available.

We have investigated *Ddw1*, which was previously mapped in a 17.1 cM interval on the long arm of chromosome 5R (KORZUN et al. 1996), in a comparative genetic approach using genome data of related grass species as a blueprint for marker development (HACKAUF and WEHLING 2005, HACKAUF et al. 2009, 2012). Intron-spanning primers were derived from rye ESTs (HASENEYER et al. 2011). An integrated map covering 27.6 cM on rye chromosome 5R was established based on 768  $F_{4.5}$  individuals segregating for *Ddw1*, which originated from the cross R1620 (tall)×R347/1 (dwarf).

We were able to delimit the location of the dwarfing gene to a 4.3 cM interval. The novel, co-dominant conserved orthologous set (COS) markers developed in this study enable an easy scoring and clear discrimination between homozygous and heterozygous dwarf genotypes and to predict *Ddw1* genotypes with a precision not feasible before. In addition, these molecular tools enable to identify recombination events, which allow for breaking up the linkage drag associated with *Ddw1* (BÖRNER et al. 2000).

In Germany, rye is mainly grown on marginal and drought-prone soils in the north German plain. The HI counts among the traits to improve yield in dry environments with plant height being a main factor to increase a drought-independent HI (RICHARDS et al. 2001). We started to evaluate semi-dwarf test hybrids in target environments located in the north German plain as well in the Marchfeld in Austria.  $F_{4.5}$  near-isogenic elite inbred lines (NIL), which are homozygous either for the recessive (tall) or dominant (dwarf) allele at the *Ddw1* locus, were crossed to 6 male-sterile tester lines. The advanced NIL had been developed from a cross of a *Ddw1* donor with a tall elite inbred line and have a similar genetic background but differ in the 5RL segment carrying *Ddw1*. Performance of these test crosses will be evaluated in 8 environments (four locations, two years). In 2012, reduced precipitation from April 1 through May 31 resulted in drought stress during flower induction and inflorescence development at three experimental sites in Mecklenburg-Western Pomerania, Brandenburg and the Marchfeld. Plant height in test hybrids carrying *Ddw1* was reduced on average by 35% compared to tall test hybrids. Thus, *Ddw1* hybrids might allow for a cultivation of rye without a need of growth regulators, thus increasing the economic efficiency of rye production. Among the 36 semi-dwarf hybrids evaluated in all the 4 environments, 17 (47%) revealed no significant differences in grain yield compared to test-crosses with tall NIL. Interestingly, 5 of the semi-dwarf hybrids significantly outperformed their tall full-sibs with respect to grain yield in two of the drought-stressed environments. Given the complexity of the genetic control of grain yield and drought tolerance, the performance of semi-dwarf genotypes carrying *Ddw1* needs to be assessed in additional environments. The evaluation of semi-dwarf test hybrids is in progress.

<sup>1</sup> Julius Kühn-Institut, Institute for Breeding Research on Agricultural Crops, Rudolf-Schick-Platz 3a, Groß Lüsewitz, D-18190 SANITZ

<sup>2</sup> Dieckmann GmbH & Co. KG, Kirchhorster Straße 16, D-31688 NIENSTÄDT

\* Corresponding author: Bernd HACKAUF, bernd.hackauf@jki.bund.de

## Keywords

Dominant dwarfing gene, drought stress, lodging, *Secale cereale*, testcross performance

## Acknowledgments

Financial support of this study by the German Federal Ministry of Food, Agriculture and Consumer Protection granted through the German Federal Office for Agriculture and Food within the Innovation Support programme is gratefully acknowledged.

## References

- BÖRNER A, KORZUN V, VOYLOKOV AV, WORLAND AJ, WEBER WE, 2000: Genetic mapping of quantitative trait loci in rye (*Secale cereale* L.). *Euphytica* 116, 203-209.
- HACKAUF B, WEHLING P, 2005: Approaching the self-incompatibility locus *Z* in rye (*Secale cereale* L.) via comparative genetics. *Theor Appl Genet* 110, 832-845.
- HACKAUF B, RUDD S, VAN DER VOORT JR, MIEDANER T, WEHLING P, 2009: Comparative mapping of DNA sequences in rye (*Secale cereale* L.) in relation to the rice genome. *Theor Appl Genet* 118, 371-384.
- HACKAUF B, KORZUN V, WORTMANN H, WILDE P, WEHLING P, 2012: Development of conserved ortholog set markers linked to the restorer gene *Rfp1* in rye. *Mol Breed* 30, 1507-1518.
- HASENEYER G, SCHMUTZER T, SEIDEL M, ZHOU R, MASCHER M, SCHÖN CC, TAUDIEN S, SCHOLZ U, STEIN N, MAYER KF, BAUER E, 2011: From RNA-seq to large-scale genotyping - genomics resources for rye (*Secale cereale* L.). *BMC Plant Biol* 11, 131.
- KOBYLJANSKY VD, 1972: On the genetics of the dominant factor of short-strawed rye. *Genetika* 8, 12-17.
- KORZUN V, MELZ G, BÖRNER A, 1996: RFLP mapping of the dwarfing (*Ddw1*) and hairy peduncle (*Hp*) genes on chromosome 5 of rye (*Secale cereale* L.). *Theor Appl Genet* 92, 1073-1077.
- RICHARDS RA, CONDON AG, REBETZKE GJ, 2001: Traits to improve yield in dry environments. In: Reynolds MP, Ortiz-Monasterio JI, McNab A (Eds.), *Application of physiology in wheat breeding*, 88-100. CIMMYT, Mexico, DF.

## Sortenprüfung der Anfälligkeit gegenüber Streifenkrankheit der Gerste und Weizensteinbrand

### Evaluation of the susceptibility of varieties to leaf stripe disease and common bunt

Manfred Weinhappel<sup>1\*</sup>, Michael Oberforster<sup>2</sup>, Clemens Flamm<sup>2</sup> und Martin Plank<sup>2</sup>

#### Abstract

Differences in variety susceptibility and factors influencing the seed-borne infection cycle of leaf stripe (*Drechslera graminea*) were investigated in a three-year project. The incidence of leaf stripe disease is influenced by factors such as the level of seed infection and environmental conditions (e.g. low temperatures during field emergence). However, there was wide variation in susceptibility even among the varieties. Additionally, the selected varieties were tested regarding their susceptibility to seed infection caused by infected plants, hosted in the field itself or in neighbouring fields; significant differences were detected. None of the tested varieties was resistant in this part of the infection cycle.

Common bunt (*Tilletia caries*) is already widespread in several countries in Europe, especially in organic farming. In the scope of Austrian variety testing, candidates registered for testing under organic conditions are assessed on their resistance against *T. caries*. The results demonstrate a high susceptibility of nearly all varieties to the disease, including those which are mainly used in organic farming. 'Globus' was the only variety to exhibit a distinctive resistance to common bunt. As common bunt infections can also be caused by soil-borne inoculum, and these infections cannot be prevented by established seed hygiene measures, improved breeding processes will be demanded in the future.

#### Keywords

*Drechslera graminea*, seed health, *Tilletia caries*, variety susceptibility

#### Einleitung

Die Streifenkrankheit der Gerste (*Drechslera graminea* (Rabenh.) Shoem.) ist eine obligate samenbürtige Krankheit, bei der Ertragsausfälle bis zu 50% möglich sind. Vor allem zu Beginn der 2000er Jahre baute sich in den Sommergerste-Hauptproduktionsgebieten Niederösterreichs ein massiver Infektionsdruck auf (WEINHAPPEL 2004). Da der Erreger kühle Temperaturen zum Zeitpunkt der Keimung bevorzugt

(WALTHER 1980, KAVAK 2004), ist die Krankheit unter österreichischen Anbaubedingungen vor allem bei Sommergerste relevant.

*Tilletia caries* (DC.) Tul., der Erreger des Gewöhnlichen Steinbrandes (Weizensteinbrand) bei Weizen und Dinkel wird überwiegend über das Saatgut übertragen, kann aber auch Infektionen an Keimlingen vom Boden aus verursachen (WILCOXSON und SAARI 1996, BORGES 2000). Erkrankte Pflanzen bilden anstelle der Körner sogenannte Brandbutten aus, die einen intensiven Fischgeruch verbreiten und daher die Qualität des Erntegutes zunichtemachen. Über Jahrzehnte war die Krankheit wenig bedeutsam, in den letzten 10-15 Jahren ist jedoch insbesondere im biologischen Landbau eine kontinuierliche Befallsausbreitung feststellbar.

Beide Krankheitserreger wurden über Jahrzehnte durch eine mehr oder weniger obligate Saatgutbeizung völlig zurückgedrängt. Verschiedene Umstände - etwa die vermehrte Anwendung von ungebeiztem Saatgut, Umstellungen im Beizmittelbereich aber vor allem durch den Anstieg der Verwendung von wirtschaftseigenem Saatgut - rückten die Erreger wieder verstärkt in den Vordergrund. Eine strikte und umfassende Qualitätsfeststellung dieser Erreger an zertifiziertem Saatgut, insbesondere für unbehandelte Aussaatwecke, ist unumgänglich. Darüber hinaus wird der Etablierung von resistenten Sorten als Zuchtziel wieder hohe Bedeutung beigemessen (SURBÖCK et al. 2003).

Bei der Streifenkrankheit der Gerste war zum Resistenzverhalten von Sorten wenig bekannt. Arbeiten über die Charakteristik der Befallsausbreitung oder über die Anfälligkeit gängiger Sorten in Europa oder genetischer Ressourcen wurden erst in den letzten Jahren wieder intensiver betrieben (NIELSEN 2002, MÜLLER 2006). Durch die hohe Bedeutung des Erregers in Österreich wurde im Rahmen des Projekts „Grundlagen zur Züchtung, Vermehrung und Sorten-/Saatgutprüfung für den Biolandbau“ ein Set an damals gängigen Sommergerstensorten getestet. Das Ziel war, die Anfälligkeit dieses ausgewählten Sortiments grundsätzlich zu beschreiben und vor allem auch die Ausbreitungsmechanismen des Erregers zu überprüfen.

<sup>1</sup> Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

<sup>2</sup> Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Inst. für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

\* Ansprechpartner: Manfred WEINHAPPEL, manfred.weinhappel@ages.at

Mit zunehmender Ausbreitung des Steinbrandbefalls steigt auch die Nachfrage nach resistenten Sorten. Bei der amtlichen Sortenprüfung von Winterweizen war die Anfälligkeit für Weizensteinbrand lange Zeit kein Bestandteil des landeskulturellen Wertes. Seit 2001/02 besteht die Möglichkeit, Kandidaten zur Bioprüfung anzumelden. Auch eine Anzahl registrierter Sorten wurde in diese Untersuchungen einbezogen.

### Material und Methoden

Die Versuche bezüglich Streifenkrankheit der Gerste wurden in den Jahren 2005 bis 2007, bzw. ein Pilotversuch bereits 2004 angelegt. Die Versuchsstandorte wurden in Anlehnung an die agronomische Bedeutung von Sommergerste ausgewählt und lagen in Aspersdorf bei Hollabrunn (ASP), Schönfeld (WAV), Kappel in Kärnten (KAP) sowie bei einem Pilotversuch 2004 in der Lobau (LOB). Die zehn Prüfsorten wurden aufgrund ihrer Anbaubedeutung in Österreich und der Verfügbarkeit von infiziertem Saatgut selektiert. Die verwendeten Sorten waren: ‘Roxana’, ‘Barke’, ‘Messina’, ‘Bodega’, ‘Xanadu’, ‘Hanka’, ‘Elisa’, ‘Tunika’, ‘Eunova’ und ‘Felicitas’.

Die Versuche wurden in vierfacher Wiederholung angelegt mit Parzellengrößen zwischen 10 und 13 m<sup>2</sup>. Der Versuchsplan (Abbildung 1) beinhaltet für jede Sortengruppe eine „Gesund-Variante“ der Sorte und links und rechts davon „Infektionsmäntel“ (Sortengemisch anfälliger Sorten) um die Erntegutinfektion ableiten zu können sowie eine „Infiziert-Variante“ der Sorte, um die Krankheitsentwicklung, ausgehend von infiziertem Saatgut, verfolgen zu können. Wesentliche erfasste Parameter waren unter anderem: (i) Befallserhebung des Ausgangssaatgutes mit Streifenkrankheit, (ii) Befallserhebung des Feldbestandes mit Streifenkrankheit, (iii) Gesundvarianten: Auszählung aller infizierten Pflanzen im Bestand, (iv) Infiziert-Varianten: Auszählung aller erkrankten und gesunden Pflanzen auf 1 m<sup>2</sup>,

(v) Befallserhebung des Erntegutes mit Streifenkrankheit und (vi) Erhebung des Kornertrages aller Versuchsvarianten.

Die Laboruntersuchungen am Ausgangssaatgut und am Erntegut wurden gemäß ISTA (1981) und den Methoden für Saatgut und Sorten (AGES 2002) durchgeführt. Die statistische Verrechnung der Daten erfolgte mit dem Programmpaket SPSS, die verwendeten Verfahren waren mehrfaktorielle Varianzanalyse und Duncan-Test.

Die Prüfungen zur Steinbrandanfälligkeit erfolgen für alle zur Biwertprüfung angemeldeten Kandidaten ab dem 2. Prüffahr. Die Versuche werden in Großnondorf (Pannonikum) und Grabenegg (Baltikum) durchgeführt. Beim Zulassungsentscheid liegen für jede Kandidatensorte zumindest vier Ergebnisse vor. Die künstliche Inokulation der Saatgutproben erfolgt mit österreichischen Sporenerkennungen in einer Dosierung von 3 g Sporen·kg<sup>-1</sup> Saatgut; dies entspricht einer Kontamination von etwa 30000 Sporen·Korn<sup>-1</sup>. Die Parzellengröße beträgt 1,2 m<sup>2</sup> in dreifacher Wiederholung. Es werden sämtliche Pflanzen der Parzelle entnommen und die Anzahl erkrankter und gesunder Ähren ermittelt.

### Ergebnisse und Diskussion

#### Streifenkrankheit der Gerste

Um die Befallsentwicklung bei Streifenkrankheit der Gerste innerhalb einer Vermehrungsgeneration detailliert beschreiben zu können, wurde die Befallsentwicklung zu mehreren Phasen ermittelt. Dies erlaubt eine Beurteilung, inwieweit und unter welcher Variation (i) infizierte Pflanzen im Bestand und/oder in umliegenden Beständen das Erntegut (= das Saatgut in der nächsten Generation) infizieren und (ii) der Saatgutbefall und die daraus resultierende Anzahl an infizierten Pflanzen korrelieren.

Dieser Ansatz erlaubt neben der Herausarbeitung von Differenzierungen im geprüften Sortenpool auch Ableitungen

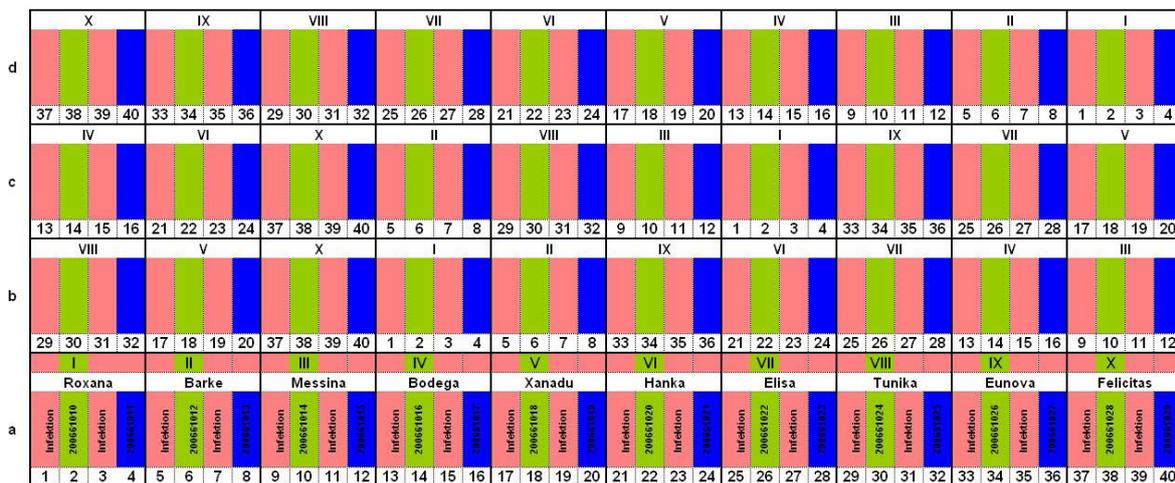


Abbildung 1: Anbauplan Sommergerste Streifenkrankheitsversuche 2005-2007 Aspersdorf/Hollabrunn und Schönfeld (rot: Infektionsmäntel; grün: Gesundvariante der jeweiligen Sorte; blau: Infiziert-Variante der jeweiligen Sorte)

Figure 1: Design of the leaf stripe trials 2005-2007 (red: inoculation plots; green: healthy plots of each variety; blue: infected plots of each variety)

für Problemstellungen und Bewertungsfragen im Rahmen der Saatgutzertifizierung.

Die Infektion des Erntegutes, welches zwar aus einem selbst gesunden Bestand stammt, der jedoch von infizierten Parzellen benachbart ist (Infektionsmäntel - siehe Schema in *Abbildung 1*) unterscheidet sich innerhalb des Sortenpools signifikant (Duncan-Test,  $P=0,05$ ). Die Sorten 'Eunova', 'Elisa' und 'Felicitas' weisen eine höhere Anfälligkeit in diesem Entwicklungsabschnitt auf.

Für die Saatgutzertifizierung bedeutet dies, dass diese Sorten tendenziell häufiger die im Rahmen des Saatgutrechts festgelegten Norm- und Grenzwerte für Streifenkrankheit der Gerste verletzen.

Neben den Unterschieden zwischen Sorten wird der Befall des Ernteguts, hervorgerufen durch infizierte Pflanzen im Feldbestand oder aber auch durch umliegende Bestände auch signifikant von jahres- und standortbedingten Vegetationsbedingungen beeinflusst. Für die Saatgutproduktion bedeutet dies, dass benachbarte, infizierte Gerstenbestände ebenfalls ein Infektionsrisiko für Saatgutvermehrungsbestände darstellen.

Durch die ausschließliche Samenbürtigkeit des Erregers ist der Befallsgrad des Feldbestandes in hohem Ausmaß vom Befall des Ausgangssaatgutes abhängig, besonders bei für den Erreger günstigen Bedingungen während der Samenkeimung. Dies bringen auch sehr deutlich die Versuchsergebnisse zu den Infektionsmänteln zum Ausdruck, für die ausschließlich hoch anfällige Sorten ('Penelope', 'Bodega', 'Barke') mit hohem Saatgutbefall (in drei Versuchsjahren zwischen 39% und 50%) verwendet wurden. Wie in *Abbildung 4* ersichtlich, konnte in Versuchen mit günstigen Bedingungen ein sehr enges Verhältnis zwischen Saatgutbefall und Feldbefall (z.B. Lobau 2004, Kappel 2006) ermittelt werden. An Standorten, an denen tendenziell spät ausgesät wurde - dies betraf überwiegend die Versuche im Waldviertel - war ein niedriges Verhältnis zu verzeichnen.

Beim Zusammenhang zwischen Saatgutbefall und der Entwicklung infizierter Pflanzen unterscheidet sich das Sortiment der zehn geprüften Sorten maßgeblich. Die Sorten 'Hanka', 'Tunika' und 'Felicitas', aber auch 'Xanadu', 'Eunova' und 'Elisa' unterdrücken die Krankheit trotz hohem Saatgutbefall vergleichsweise gut, sodass nur ein

Durchschnitt aller Versuche 2005-2007

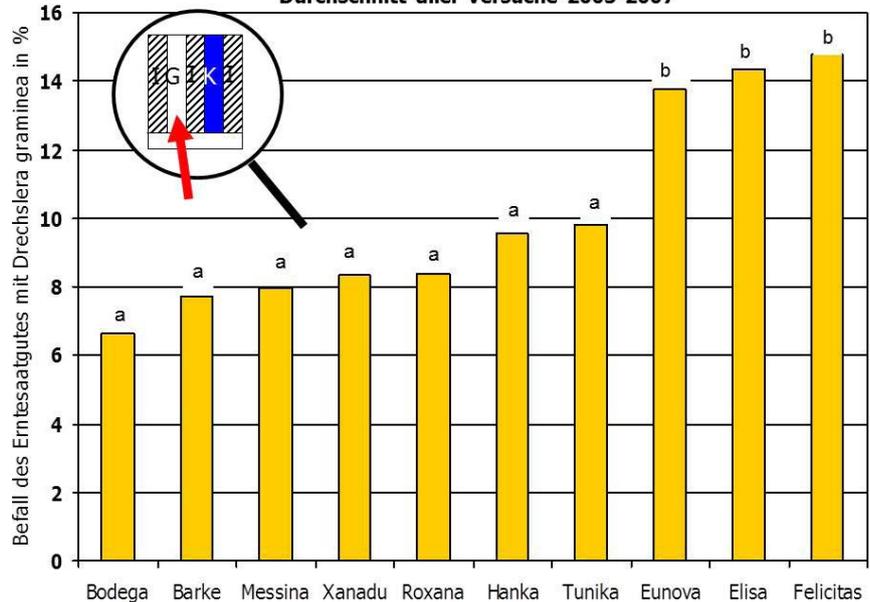


Abbildung 2: Befall des Erntegutes mit Streifenkrankheit der Gerste hervorgerufen durch hoch infizierte benachbarte Parzellen

Figure 2: Infection of seeds with leaf stripe caused by high infected neighboring plots

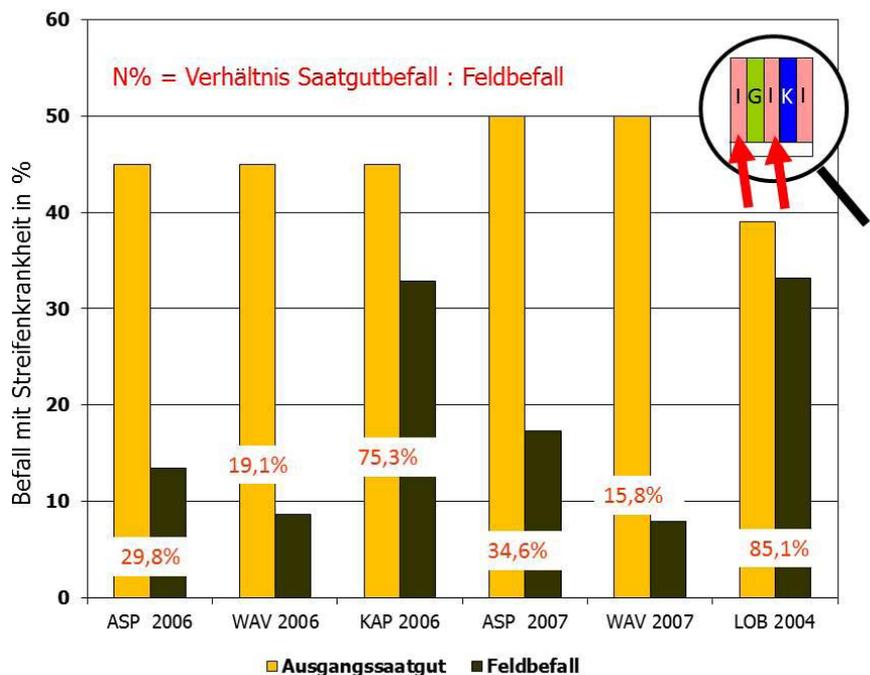


Abbildung 3: Durchschnittliche Infektion des Feldbestandes mit Streifenkrankheit der Infektionsmäntel in Abhängigkeit von Standort und Jahr

Figure 3: Mean infection levels of the Drechslera graminea inoculum plots depending on year and location

geringer Anteil an infizierten Pflanzen feststellbar war. Bei den Sorten 'Barke', 'Roxana', 'Bodega' und 'Messina' bedingt hoher Saatgutbefall auch eine Erkrankung bzw. die Hervorbringung von Krankheitssymptomen an der Pflanze in hohem Ausmaß (*Abbildung 4*). Die im Projekt geprüften Sorten zeigen daher in dieser Eigenschaft signifikante Diffe-

renzierungen auf. Diese Ergebnisse, als auch die Sortenrangfolge decken sich gut mit Ergebnissen anderer Projekte (NIELSEN 2002, MÜLLER 2006).

Durch diesen komplexen Ausbreitungsmechanismus der Streifenkrankheit der Gerste ist die Testung der Anfälligkeit in die amtliche Sortenprüfung schwierig integrierbar. Andererseits liefert eine Einstufung der Sortenanfälligkeit einen wesentlichen Beitrag zur Beschreibung der Anpasstheit einer Sorte an Biobedingungen. Die Bewertung des Saatgutbefalles, insbesondere unter integrierten und biologischen Produktionsverfahren ist daher unumgänglich, auch wenn sie sortenspezifisch nicht gleichwertig angepasste Ergebnisse zur Vorhersage des tatsächlichen Gefahrenpotentials liefert.

### Gewöhnlicher Steinbrand

Aufgrund der nicht nur in Österreich verschärften Befallssituation bei Weizensteinbrand nahm die Bearbeitung des Themas Steinbrand im Allgemeinen zu. Neben den im Biolandbau, aber auch in der integrierten Produktion, zwingend notwendigen Vorbeugemaßnahmen mittels hochwertigstem Saatgut wurden und werden auch verstärkt Arbeiten zur Beschreibung des Resistenzverhaltens von Sorten (BÄNZINGER et al. 2003, WÄCHTER et al. 2007, HUBER und BUERSTMAYR 2009) sowie züchterische Aktivitäten durchgeführt.

Mit der in den Versuchsanstellungen durchgeführten Inokulationsintensität werden hohe Befallsgrade an infizierten Ähren erreicht (Abbildung 5). Zudem werden die Versuche meist zu Terminen, bei denen günstige Keimtemperaturen von etwa 10-12°C (SORAUER 1962, GOATES 1996) für den Erreger herrschen, ausgesät. In Abbildung 5 sind die Ergebnisse aus den Jahren 2011 und 2012 dargestellt. Die Sortenrangfolge ist über die Umwelten gut reproduzierbar. Das dargestellte Sortiment zeigte einen Anteil von 11,4 bis 84,9% erkrankter Ähren.

Die Verrechnung der Daten aus dem Versuchszeitraum 2005-2012 mittels statistischer Adjustierung der Mittelwerte weist auch über ein breiteres Sortiment eine überwiegend mittlere bis hohe Anfälligkeit gegenüber Weizensteinbrand auf (Abbildung 6). HUBER und BUERSTMAYR (2009) kommen in einem Screening, bei Sorten die übereinstimmend geprüft wurden, zu einer ähnlichen Rangfolge. Die höchsten Befallswerte von über 70% wurden für die Sor-

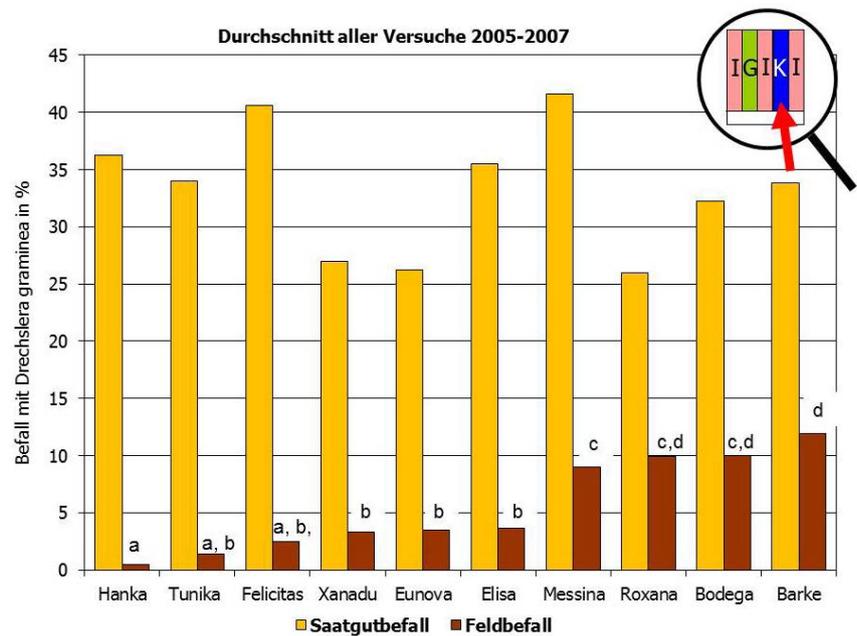


Abbildung 4: Ausgangssaatgutbefall und daraus resultierender Anteil an mit Streifenkrankheit infizierten Pflanzen

Figure 4: Relationship between seed infection level and percentage of *Drechslera graminea* diseased plants in the field

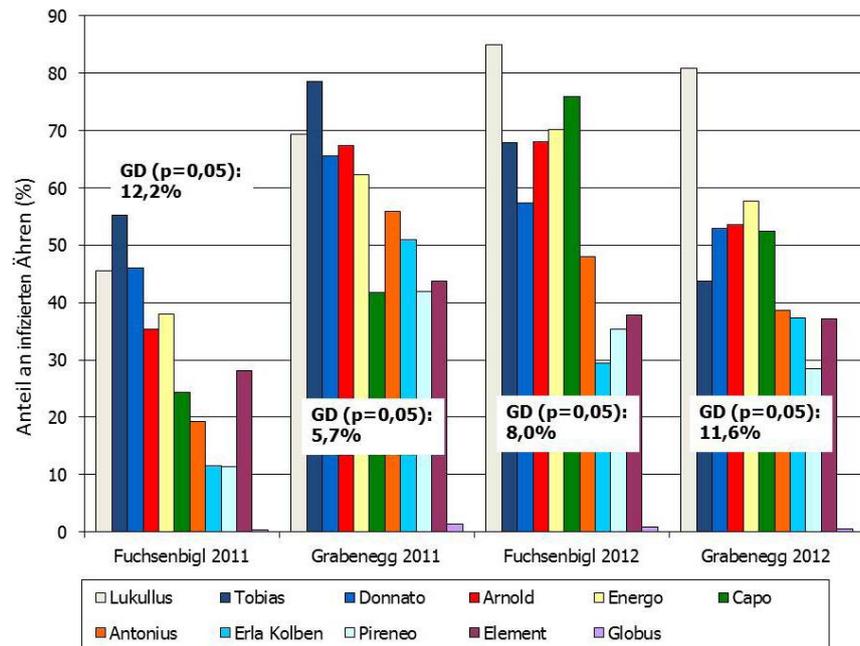


Abbildung 5: Prozentueller Befall der Ähren von Winterweizensorten mit Gewöhnlichem Steinbrand (Versuche mit Inokulation des Saatgutes 2011-2012, 11 Sorten)

Figure 5: Percentage of diseased spikes of winter wheat varieties with common bunt (Trials with inoculated seed 2011-2012, 11 varieties)

ten 'Manhattan' und 'SW Maxi' ausgewiesen. Beide sind allerdings im biologischen Landbau nicht bedeutsam und werden überwiegend konventionell gebeitzt angebaut. Aber auch Sorten mit Verbreitung im Biolandbau (in Abbildung 6 in Großbuchstaben dargestellt) wie 'Bitop', 'Tobias', 'Arnold', 'Capo' und 'Estevan' weisen Befallswerte von

55 bis nahezu 70% infizierter Ähren auf. Zwar erwiesen sich andere auch häufig im Biolandbau genutzte Sorten wie 'Astaro', 'Antonius', 'Pireneo' oder 'Stefanus' günstiger in der Merkmalsausprägung, dennoch liegen die Werte des Steinbrandbefalles auf beträchtlichem Niveau (im Bereich 30-45%). Ergebnisse und Erfahrungsberichte aus Konsumwarenuntersuchungen zeigen auch für Sorten mit derartiger Anfälligkeit hohe Befallsszenarien im praktischen Anbau. Es ist davon auszugehen, dass mittel anfällige Sorten keine wirkungsvolle Vorbeugung gegenüber Steinbrandbefall darstellen. Lediglich die Sorte 'Globus', die im österreichischen Biolandbau wegen ihrer Qualitätseigenschaften jedoch keine Anbaubedeutung hat, erwies sich in allen Versuchen als nahezu resistent.

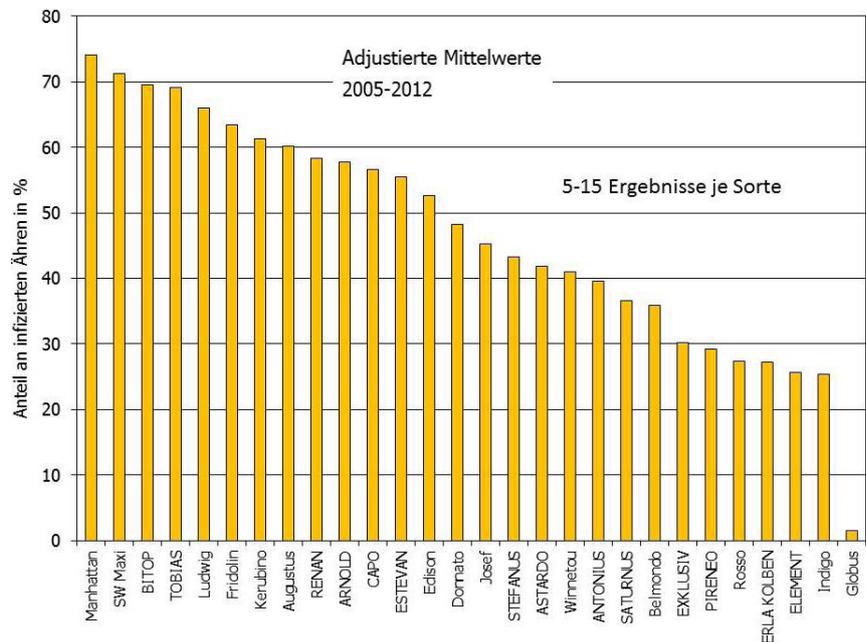


Abbildung 6: Prozentueller Befall der Ähren von Winterweizensorten mit gewöhnlichem Steinbrand (Versuche mit Inokulation des Saatgutes 2005-2012, adjustierte Mittelwerte, 28 Sorten)

Figure 6: Percentage of diseased spikes of winter wheat varieties with common bunt (Trials with inoculated seed 2011-2012, adjusted means, 28 varieties)

## Schlussfolgerungen

Die zehn geprüften Sorten unterscheiden sich in ihrer Anfälligkeit gegenüber Streifenkrankheit der Gerste teils wesentlich. Einerseits liegen sortenspezifische Differenzierungen - inwieweit es zu einer Neuinfektion des Samens kommt - vor. Andererseits gibt es auch deutliche signifikante Differenzierungen im Sortiment in der Ausbildung von infizierten Pflanzen bei Anbau von erkranktem Saatgut. Im Zuge der Saatgutprüfung festgestellte Saatgutinfektionswerte und deren Bewertung anhand der Saatgutnorm- und Grenzwerte stellen daher einen differenzierten Vorhersagewert für den Anbau dar. Weiters erscheint eine Integration der Anfälligkeitsprüfung gegenüber Streifenkrankheit in die Sortenwertprüfung aufgrund der komplexen Versuchsanstellung als unwahrscheinlich.

Das im Zuge der Biowertprüfung getestete Sortiment an Winterweizen weist fast durchwegs eine mittlere bis sehr hohe Anfälligkeit gegenüber Steinbrand auf. Das Resistenzverhalten dieser Sorten ist daher nicht geeignet, die Unterdrückung des Erregers *Tilletia caries* nur aufgrund der Sortenwahl voranzutreiben. Da neben dem samenbürtigen Infektionskreislauf, der insbesondere im Biolandbau durch saathygiene Maßnahmen gut kontrollierbar ist, aber zusehends auch Krankheitsübertragungen aus dem Boden stattfinden, wäre jedoch die Entwicklung resistenter Sorten, die auch agronomisch an die in Österreich vorherrschenden Bedingungen angepasst sind wünschenswert.

## Danksagung

Dem Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft sei für die Finanzierung der Projektarbeiten zur Streifenkrankheit der Gerste herzlich gedankt.

## Literatur

- ISTA, 1981: Handbook on seed health testing. Section 2, Working sheets. International Seed Testing Association, Zürich.
- AGES, 2002: Methoden für Saatgut und Sorten - Richtlinien für die Sortenprüfung. Sondernummer 13, Sorten- und Saatgutblatt 2002, 10. Jahrgang.
- BÄNZINGER I, FORRER HR, SCHACHERMAYR G, GINDRAT D, FREI P, 2003: Stinkbrandanfälligkeit in- und ausländischer Weizensorten. Agrarforschung 10, 328-333.
- BORGEN A, 2000: Perennial survival of common bunt (*Tilletia tritici*) in soil under modern farming practice. Z Pflkrankh Pflschut 170, 182-188.
- GOATES GJ, 1996: Common bunt and dwarf bunt. In: WILCOXSON RD, SAARI E (Eds.), Bunt and smut disease of wheat: Concepts and methods of disease management, 12-25. CIMMYT, Mexico.
- HUBER K, BUERSTMAYR H, 2009: Development of methods for bunt resistance breeding for organic farming. In: HARTL W, SCHWEIGER P, HOFER M, PETRASEK R, DIETHART I (Eds.), Österreichisches Saatgut-/ Sortenprojekt für den Biolandbau 2004-2009, 126-132. Bio Forschung Austria, Wien.
- KAVAK H, 2004: *Pyrenophora graminea* in fields sown-spring barley Angora in arid district of Turkey. Pakistan J Biol Sci 7, 1225-1228.
- MÜLLER KJ, 2006: Die Anfälligkeit gegenüber der Streifenkrankheit (*Pyrenophora graminea*) im deutschen Sommergerstensortiment unter natürlichen Befallsbedingungen im ökologischen Landbau. Abschlussbericht, Forschungsprojekt 514-43.10/03OE 022. BM für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz, Berlin.
- NIELSEN BJ, 2002: Screening for resistance to leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) in barley. Proc 2<sup>nd</sup> Int Workshop Barley leaf blights, 277-280. ICARDA, Aleppo.

- SORAUER P, RICHTER H, HASSEBRAUK K, 1962: Handbuch der Pflanzenkrankheiten, Bd. 3: Pilzliche Krankheiten und Unkräuter. Paul Parey Verlag, Hamburg.
- SURBÖCK A, GRAUSGRUBER H, FREYER B, 2003: Zuchtziele, Züchtungskriterien und Bewertung von Zuchtmethoden. In: Saatgut für den biologischen Landbau, 1-147. ARGE Bio-Landbau, Wien.
- WÄCHTER R, WALDOW F, MÜLLER KJ, SPIESS H, HEYDEN B, FURTH U, FRAHM J, WENIG W, MIEDANER T, STEPHAN D, KOCH E, 2007: Charakterisierung der Resistenz von Winterweizensorten und -zuchtlinien gegenüber Steinbrand (*Tilletia tritici*) und Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*). Nachrichtenbl Dtsch Pflanzenschutzd 59, 30-39.
- WALTHER HF, 1980: Biologische Grundlagen zur Wirkung Hg-freier, systemischer Fungizide gegen *Drechslera graminea*, dem Erreger der Streifenkrankheit der Gerste. Dissertation, Technische Universität, München.
- WEINHAPPEL M, 2004: Ähnlich und doch sehr verschieden - Streifenkrankheit und Netzfleckenkrankheit der Gerste. Der Pflanzenarzt 57 (3), 8-10.
- WILCOXSON RD, SAARI EE, 1996 (eds): Bunt and Smut Diseases of Wheat. Concepts and methods of diseases. CIMMYT, Mexico.

---

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

## Association mapping for common bunt resistance in wheat

Philipp Steffan<sup>1</sup>, Anders Borgen<sup>2</sup>, Søren K. Rasmussen<sup>1\*</sup>, Jihad Orabi<sup>1</sup> and Gunter Backes<sup>1</sup>

### Abstract

Common bunt, caused by *Tilletia caries* and *T. foetida*, is a fungal disease of wheat worldwide. Infection, occurring via seed borne teliospores, is generally controlled by the application of seed treatments prior to sowing. Farming systems like organic agriculture with a very limited range of organic seed treatments available rely heavily on common bunt resistance genes within wheat. In the framework of the BIOBREED project an association study with 152 wheat varieties was conducted, aiming at the identification of genetic loci associated with resistance to common bunt.

The wheat lines were phenotyped for their resistance reaction for two consecutive years 2011 and 2012 at Agrologica research station in Denmark. Infection was scored as percent infected ears per wheat variety in two replications. The scorings were log-transformed to fit a disease scoring scale ranging from 1 to 9. Wheat lines were genotyped with DArT markers (JACCOUD et al. 2001), yielding 1832 polymorphic loci. The association analysis was performed for the data of each year separately as well as for the mean of the scoring of the two years.

After analysing 1832 DArT markers, 13 markers - localised on chromosomes 1A, 2A, 2B, 2D, 3B, 5B, 6A and 7B - showed significant association with common bunt resistance ( $-\log_{10}(P) > 3$ ). Four of the 13 linked markers resided on chromosome 2B, a chromosome which was previously reported to carry the *Bt1* gene for common bunt resistance. Further two linked markers were found on chromosome 2D, a chromosome previously reported to carry common bunt resistance gene *Bt7* (GOATES 1996).

Further comparisons of our findings with other published results are difficult since only very little is known about the chromosomal location of common bunt resistance in wheat. The present study possibly confirms the chromosomal location of two previously identified resistance genes and further identifies six loci previously not reported to be associated with resistance to common bunt in wheat.

### Keywords

Organic farming, seedborne disease, *Tilletia caries*, *Triticum aestivum*

### Acknowledgments

BIOBREED is supported by The Danish Food Industry Agency, Ministry of Food, Agriculture and Fishery 2010-14.

### References

- GOATES GJ, 1996: Common bunt and dwarf bunt. In: WILCOXSON RD, SAARI E (Eds.), Bunt and smut disease of wheat: Concepts and methods of disease management, 12-25. CIMMYT, Mexico, DF.
- JACCOUD D, PENG K, FEINSTEIN D, KILIAN A, 2001: Diversity Arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. Nucleic Acid Res 29, e25. DOI: 10.1093/nar/29.4.e25

<sup>1</sup> University of Copenhagen, Molecular Plant Breeding Group, Bülowsvej 17, 1870 FREDERIKSBERG C, Denmark

<sup>2</sup> Agrologica, Houvej 55, 9550 MARIAGER, Denmark

\* Corresponding author: Søren K. RASMUSSEN, skr@life.ku.dk



# Wheat screening for resistance to common bunt and dwarf bunt

Veronika Dumalasová<sup>1\*</sup> and Pavel Bartoš<sup>1</sup>

## Abstract

A wide range of wheat genotypes were tested from 2009 to 2012 for resistance to common and dwarf bunt in artificial inoculation tests. Highly resistant (0% diseased spikes) and resistant (<10% diseased spikes) common wheat varieties were identified. The highest incidence of common bunt was observed in 2009 for variety Pitbull (86% diseased spikes). Dwarf bunt infection was low in all years. No infection was observed in genotypes carrying *Bt11*, *Bt12* and *Bt13*.

## Keywords

*Tilletia controversa*, *Tilletia laevis*, *Tilletia tritici*, *Triticum aestivum*

## Introduction

Common bunt and dwarf bunt are cereal fungal diseases causing severe economic losses worldwide, whenever use of resistant varieties, seed treatment or bunt limiting cultural practices are abandoned. Chemical treatment of the seed is widely used to control bunt, however, it is not allowed under organic farming conditions. Resistant varieties may reduce the losses due to bunt drastically. Infection levels in highly susceptible cultivars exceed 80% of diseased spikes, while in highly resistant cultivars only 0% diseased spikes are observed.

Common bunt is caused by *Tilletia caries* (D. C.) Tul. & C. Tul. (*syn. T. tritici* (Bjerk.) G. Winter and *T. laevis* J. G. Kühn (*syn. T. foetida* (Wallr.) Liro, dwarf bunt by *T. controversa* J. G. Kühn. The three morphologically distinct bunt species are genetically very closely related, to the extent that genes for bunt resistance are identical. Although numerous studies did not succeed to differentiate the three species at the genetic level using molecular techniques, GAO et al. (2011) distinguished *T. controversa* based on a diagnostic molecular marker generated from intersimple sequence repeat (ISSR). Despite the close relationship of the three pathogens, common bunt and dwarf bunt diseases differ in etiologies and climatic requirements.

## Material und Methods

A wide range of wheat varieties (Tables 1-3) were tested from 2009 to 2012. Common bunt inoculation was done by shaking seed with a surplus of teliospores in Erlenmeyer flasks for 1-2 min. Inoculation and sowing (1 m long rows, 4 replications) was carried out in early October.

For dwarf bunt tests 1 m long rows with 8-10 replications were sown. Teliospores were evenly spread on the soil surface after sowing. In absence of a snow cover the plots in covered with straw or white nonwoven fabric.

## Results and Discussion

### Common bunt

The inoculum was a mixture of Czech isolates. Its virulence to *Bt1*, *Bt2*, *Bt7* genes was determined on a set of differential varieties carrying individual *Bt* genes. Genotypes with *Bt9*, *Bt10*, *Bt11* and *Bt12* genes were resistant to the inoculum mixture.

Different isolates were used occasionally. They can have different reactions on the same varieties and enable to estimate resistance genes as was proved in the test for Euris, 'Bussard', 'Nela', 'Mv 25' and Hadmerslebener 20037-88 using the *T. laevis* isolate from Praha-Ruzyně and the *T. tritici* isolate from Kroměříž. These genotypes were resistant to *T. tritici* and susceptible to *T. laevis*. They may carry gene(s) *Bt1* and/or *Bt2*, because the *T. laevis* isolate used in the test is virulent to *Bt1* and *Bt2*, whereas the *T. tritici* isolate is avirulent to *Bt1* and *Bt2*. Other differences between the isolates were not determined.

In our experiment including 9 isolates mostly of European provenience virulence to *Bt2* and *Bt7* prevailed, virulence to *Bt1* was frequent as well. In the Czech Republic virulence appeared also to *Bt3*, in Bulgaria to *Bt4* and *Bt6*, in Syria and Sweden to *Bt10*. *Bt* genes effective against the isolates tested were *Bt5*, *Bt8*, *Bt11* and *Bt12* (BLAŽKOVÁ and BARTOŠ 2002). Similar results were obtained by KUBIAK and WEBER (2008) and HUBER and BUERSTMAYR (2006). However, WÄCHTER et al. (2007) discovered additionally virulence to *Bt9* and *Bt13*. In comparison, in the USA a high number of international isolates as well as products of hybridization were studied in extensive tests. Recently, new races reached unusual high number of genes for virulence, even 9 genes for virulence may cumulate in a single race. Thus, only *Bt11* remains effective against all known races of common bunt to date, whereas a dwarf bunt race virulent to *Bt11* was already detected (GOATES 2012).

The majority of varieties registered in the Czech Republic showed to be susceptible to common bunt. Table 1 summarizes cultivars with a high bunt incidence (>40% diseased spikes). Table 2 comprises varieties with up to 40% diseased spikes. The highest bunt incidence was recorded in 2009 for 'Pitbull' (85.9%), 2010 for 'Aladin' (77.4%), 2011 for

<sup>1</sup> Crop Research Institute, Drnovská 507, CZ-16106 PRAHA-RUZYŇ, Czech Republic

\* Corresponding author: Veronika DUMALASOVÁ, dumalaso@vurv.cz

**Table 1: Varieties with a high bunt incidence (>40% diseased spikes) in 2009-2012.** Mean values are presented in brackets; genotypes in decreasing order.

2009	2010	2011	2012
Pitbull (85.9)	Aladin (77.4)	JB Asano (64.8)	Magister (66.3)
Barryton (85.5)	Federer (77.2)	Batis (63.1)	Citrus (65.6)
Federer (85.3)	Batis (66.8)	Athlon (61.7)	JB Asano (59.4)
Megas (80.4)	RW Nadal (64.5)	Jindra (61.6)	Caroll (58.3)
Bakfis (80.3)	Preciosa (64.4)	Federer (59.0)	Athlon (57.3)
Kodex (80.1)	Brentano (64.0)	Preciosa (54.3)	Henrik (52.9)
Raduza (79.7)	Magister (55.5)	Brentano (51.6)	Evina (51.6)
Mladka (73.8)	Fortis (54.5)	Altigo (49.5)	Fortis (51.4)
Hermann (73.0)	Henrik (54.4)	Graindor (48.3)	Altigo (49.4)
Bagou (71.9)	Seladon (48.6)	Salut (48.3)	Preciosa (46.4)
Kerubino (71.2)	Jindra (45.5)	Bodyček (47.8)	Elly (44.2)
Anduril (68.2)	Bagou (44.2)	Aladin (44.0)	Hewitt (44.1)
Batis (66.5)	Elly (43.2)	Magister (42.8)	Aladin (43.0)
Sakura (62.0)		Henrik (41.9)	Batis (42.2)
Sultan (61.8)			Graindor (41.9)
Seladon (61.5)			WO 4458 A-2 (41.4)
Manager (59.7)			Dulina (41.2)
Baletka (57.2)			
Bohemia (50.9)			
Orlando (45.7)			
Mulan (42.6)			

**Table 2: Varieties with a low to medium incidence (<40% diseased spikes) in 2009-2012.** Mean values are presented in brackets; genotypes in decreasing order.

2009	2010	2011	2012
Nikol (31.7)	Brilliant (39.4)	Caroll (38.8)	Salut (38.5)
Helmut (28.9)	Bodyček (38.2)	Bagou (36.8)	20817-3 (38.2)
Secese (26.6)	Secese (38.0)	Potenzial (34.9)	Bodyček (37.5)
Brilliant (19.8)	Iridium (35.2)	RW Nadal (34.6)	Potenzial (33.9)
Bill (8.1)	Hermann (31.0)	Manager (34.4)	Turandot (33.9)
Globus (4.1)	Salut (28.7)	Matylda (32.4)	Cimrmanova raná (32.6)
	Graindor (23.9)	WO 4458A-2 (30.6)	Chevalier (32.4)
	Manager (15.7)	Fortis (30.0)	Beduin (32.2)
	Globus (1.9)	Elly (28.8)	Hermann (30.0)
	Bill (1.5)	Elan (28.7)	Brentano (29.8)
		Seladon (25.1)	RW Nadal (29.1)
		20817-3 (24.0)	Jindra (29.0)
		Secese (23.9)	Fermi (25.8)
		Feria (22.7)	Feria (25.1)
		Sorrial (22.3)	KWS Ozon (23.5)
		Beduin (21.9)	Dagmar (22.7)
		Iridium (21.5)	Sj. 07-042 (22.1)
		Brilliant (20.2)	Sorrial (21.1)
		Hermann (12.0)	Elan (20.7)
		Globus (2.0)	Princeps (19.9)
		Bill (0.2)	Matylda (19.5)
			Tiguan (19.4)
			Iridium (19.2)
			Golem (10.5)
			Manager (10.4)
			Sailor (5.4)
			Bill (0.0)
			Globus (0.0)

‘JB Asano’ (64.8%) and 2012 for ‘Magister’ (66.3%). The susceptible check ‘Batis’ had 66.5%, 66.8%, 63.1% and 42.2% in 2009, 2010, 2011 and 2012, respectively. High resistance was detected in ‘Globus’ and ‘Bill’, however, relevant resistance genes were not characterized yet. The low bunt incidence on ‘Sailor’ in 2012 has to be still verified, to exclude underestimation of its bunt incidence due to a relatively weak infection pressure in 2012.

The presence of effective genes for resistance to common bunt in Czech varieties is rare. Therefore other materials were screened. In total, 46 of the varieties tested since 1995 in Praha-Ruzyně displayed high resistance to common bunt (no bunt incidence), 13 were resistant (0-10% of spikes diseased) (*Table 3*). Furthermore, results of 6 years of the European *Tilletia* cooperative test from Praha-Ruzyně may provide some additional potential sources of resistance.

**Table 3: Genotypes with effective genes for resistance to common bunt**

Highly resistant (0% diseased spikes)		Resistant (0-10% diseased spikes)	
Blizzard	Lewjain	Rio	Cardon
Amigo	M82-2123	Sel. M72-1250	Trintella
Bold	Magnifik	Sel. M72-345	Wasatch
Bonneville	Manning	Sel. R63-6982	Hildebrands Weissweizen B
Bruehl	Meridian	Sel. M65-2124	Weston
CI 14106	PI 119333	Sprague	Sel. M72-2501
Crest	PI 166910	Stava	Madsen
Deloris	PI 178383	SW 51136	Mikon
DW Red	PI 560601	Thule III (PI181463)	Šechurdinovka
Franklin	PI 178201	Tjelvar	Nebred
Gary	PI 178383	Tommi	Yayla 305 (PI 178210)
Golden Spike	PI560795 Sel. BCO	Turkey (CI1558)	Cardos
Hansel	PI 560841 Sel. BCL	Ute	Dobrovická přesívka
Hohenheimer	PI 560841 Sel. WCO	Winridge	
KW9403	Promontory		
KW9410	Ridit		

The European winter wheat variety ‘Trintella’ was investigated for the location of bunt resistance genes using a doubled haploid mapping population of a cross with the susceptible variety ‘Piko’. The population was scored for bunt infection in the field for two years following inoculation with a mixture of teliospores of *T. tritici* and *T. laevis*. A genetic map of 29 linkage groups was constructed using polymorphic simple sequence repeat (SSR) markers. This map was used for QTL analysis and in both years it was evident that resistance to common bunt was due to a gene on chromosome 1BS, near the centromere, close to marker *Xgwm273*. Additionally, in 2008, small effects on resistance were ascribed to chromosomes 7A and 7B. Another small effect was ascribed to chromosome 5B in 2009 only (DUMALASOVÁ et al. 2012). ‘Winridge’ and PI 166910 from the group of highly resistant varieties were further evaluated in the field for *Fusarium* head blight (FHB) resistance under high infection pressure. Data on deoxynivalenol (DON) content were supplemented by symptom scores and the determination of the percentage of *Fusarium* damaged grains and the relative reduction of grain weight per spike. Both genotypes showed reaction similar to the moderately resistant checks ‘Arina’ and ‘Petrus’, however, with a significantly lower DON content (CHRPOVÁ et al. 2012). Common bunt resistance was also tested in durum, spelt and emmer wheat. Materials that seemed to be resistant in the field often showed susceptibility in the greenhouse under optimal conditions for infection. However, susceptible durum, spelt and emmer wheats did not reach as high bunt incidence as susceptible spring wheat check ‘Vinjett’. Dehulling of spelt and emmer wheat increased the level of infection after inoculation (DUMALASOVÁ and BARTOŠ 2010).

### Dwarf bunt

Seven genotypes carrying different *Bt* genes effective to common bunt were tested in seedbeds. Dwarf bunt usually contains a higher number of genes for virulence than common bunt. This is why varieties resistant to dwarf bunt have to contain more resistance genes, corresponding to virulence genes, than varieties resistant to common bunt. Therefore, varieties resistant to dwarf bunt are usually resistant also to common bunt.

The level of dwarf bunt infection was very low in the test, 4.9% *Bt7*, 0.3% *Bt8*, 0.1% *Bt9*, 0.7% *Bt10*. It is impossible to draw conclusions from these data, though we noticed no infection on genotypes carrying *Bt11*, *Bt12* and *Bt13*.

Several authors described ‘Blizzard’, ‘Bonneville’, ‘Golden Spike’, ‘Gary’, ‘Winridge’, ‘Wasatch’, ‘Weston’ and ‘Sprague’ to carry effective resistance to dwarf bunt. These varieties proved to be resistant also to common bunt in our trial. Moreover, ‘Winridge’ is moderately resistant to FHB. Genotypes carrying *Bt11*, which is effective against the majority of common bunt and dwarf bunt races, were not used in resistance breeding programs so far (GOATES 2012).

Triticale is supposed to be a dwarf bunt host. In our tests with artificial soil infection, six triticale cultivars appeared to be resistant compared to the susceptible check ‘Batis’. Only one variety was infected with dwarf bunt, and even in this case the infection did not exceed 10%. Triticale varieties showed resistance to common bunt in our field tests. In total 17 varieties were tested.

### Conclusions

Deliberate breeding for bunt resistance was performed in the USA, Canada, Ukraine, Sweden, Romania and other countries. Moreover, some level of resistance to common bunt occurred in European varieties (e.g. Tommi) unintentionally, which indicates, that it is possible to combine resistance and agronomically important traits.

Sources of resistance may be found also in wild relatives of wheat (e.g. *Aegilops* spp., *Agropyron intermedium*, e.g. the *BtZ* gene). Resistance is based on major (*Bt* genes) and minor genes for quantitative resistance (QTL).

Up to now screening of genotypes for bunt resistance is mainly done in infection tests with artificial inoculation. Besides, molecular techniques were already employed, e.g. in the USA, Canada and Romania.

### Acknowledgement

The research was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic, Projects No. MZE 0002700604 and No. QJ1210189.

## References

- BLAŽKOVÁ V, BARTOŠ P, 2002: Virulence pattern of European bunt samples (*Tilletia tritici* and *T. laevis*) and sources of resistance. *Cereal Res Commun* 30, 335-342.
- CHRPOVÁ J, ŠÍP V, ŠTOČKOVÁ L, DUMALASOVÁ V, 2012: Evaluation of *Fusarium* head blight resistance in wheat under high infection pressure in field conditions. *Cereal Res Commun* 40, 396-404.
- DUMALASOVÁ V, BARTOŠ P, 2010: Reaction of wheat, alternative wheat and triticale cultivars to common bunt. *Czech J Genet Plant Breed* 46: 14-19.
- DUMALASOVÁ V, SIMMONDS J, BARTOŠ P, SNAPE J, 2012: Location of genes for common bunt resistance in the European winter wheat cv. Trintella. *Euphytica* 186, 257-264.
- GAO L, CHEN W, LIU T, 2011: An ISSR-based approach for the molecular detection and diagnosis of dwarf bunt of wheat, caused by *Tilletia controversa* Kühn. *J Phytopathol* 159, 155-158.
- GOATES BJ, 2012: Identification of new pathogenic races of common bunt and dwarf bunt fungi, and evaluation of known races using an expanded set of differential wheat lines. *Plant Dis* 96, 361-369.
- HUBER K, BUERSTMAYR H, 2006: Development of methods for bunt resistance breeding for organic farming. Proc 15<sup>th</sup> Biennial Workshop on the Smut Fungi, June 11-14, Prague, Czech Republic. *Czech J Genet Plant Breed* 42 (Special Issue), 66-71.
- KUBIAK K, WEBER Z, 2008: Virulence frequency of *Tilletia caries* and the occurrence of common bunt on 20 winter wheat cultivars. *Phytopathol Pol* 47, 11-19.
- WÄCHTER R, WALDOW F, MÜLLER KJ, SPIESS H, HEYDEN B, FURTH U, FRAHM J, WENG W, MIEDANER T, STEPHAN D, KOCH E, 2007: Charakterisierung der Resistenz von Winterweizensorten und -zuchtlinien gegenüber Steinbrand (*Tilletia tritici*) und Zwergsteinbrand (*T. controversa*). *Nachrichtenbl Deut Pflanzenschutzd* 59, 30-39.

# Nachweis über die Dauer der Infektionsfähigkeit von Steinbrand- (*Tilletia caries*) und Zwergsteinbrandsporen (*T. controversa*) im Boden und Stallmist unter Berücksichtigung verschiedener Fruchtfolgen in Biobetrieben

## Study on time duration of viability and related infestation possibility of common bunt (*Tilletia caries*) and dwarf bunt (*T. controversa*) spores of wheat in soil and farmyard manure taking into account different crop rotation systems in ecological farming

Robert Bauer<sup>1\*</sup>, Benno Voit<sup>1</sup>, Berta Killermann<sup>1</sup> und Kurt-Jürgen Hülsbergen<sup>2</sup>

### Abstract

This research work is investigating if (i) in case of a high infestation level with common and/or dwarf bunt farmers have to stop temporarily wheat cultivation and (ii) how many years wheat should not be grown on these fields. Crop rotation field trials are performed over 3 years at 3 sites with 4 replicates on infested fields with crops commonly used in organic farming to determine whether it is possible to decrease the spore potential in the soil. *Brassica* species releasing isothiocyanates after mulching are cultivated to examine if it is possible to reduce the viability of bunt spores. Additionally, the influence of stable manure on bunt spores is tested. Soil samples are taken twice a year from each plot and the spore potential is determined under the microscope as well as the germination ability of the spores on agar plates. Variation of the number of spores in stable manure is determined half-yearly during storage. Physical restrictions hamper the finding of a high amount of spores in the soil. Retrieval rates of about 30% to 50% are achieved at present. After one year of storage the spore potential in stable manure has decreased by more than 90%. Optimal germination conditions for common and dwarf bunt spores from bunt balls have been elaborated and established. These conditions are tested at present with spores from the soil.

### Keywords

Organic farming, seedborne disease, soil, spore potential, teliospores, *Triticum* sp.

### Einleitung

Steinbrand und Zwergsteinbrand sind die gefährlichsten Krankheiten im ökologischen Weizen- und Dinkelanbau. Bei starkem Befall stellen sich die Landwirte die Frage, ob der Weizenanbau vorübergehend eingestellt werden muss oder wie viele Jahre auf dem befallenen Feld kein

Weizen angebaut werden soll. Zur Beantwortung dieser Fragen wird im Rahmen eines dreijährigen Forschungsprojekts untersucht, inwieweit sich durch eine entsprechende Fruchtfolgegestaltung das Brandsporenpotenzial im Boden reduzieren lässt. Zusätzlich wird überprüft, ob der Zwischenfruchtanbau mit Senf zur Reduzierung der Infektionsfähigkeit des Brandsporenpotenzials im Boden beiträgt (Biofumigation). Darüber hinaus wird der Einfluss von Stallmist auf die Brandsporen im Boden untersucht. Zudem wird die Veränderung der Sporenzahl in gelagertem Stallmist über einen längeren Zeitraum ermittelt.

### Material und Methoden

Auf Flächen von drei ökologisch bewirtschafteten Betrieben in Bayern (Oberndorf, Obbach, Wolfersdorf), die in den letzten Jahren einen Befall mit Brandkrankheiten aufwiesen, werden die randomisierten Fruchtfolgeversuche einschließlich Zwischenfruchtanbau mit Senf sowie Mistausbringung durchgeführt. Die Fruchtfolgen sind zweigeteilt, d. h. bei dem einen Teil ist der Schwerpunkt Klee gras und der andere Teil enthält Erbsen als Leguminosen-Anteil.

Von allen Parzellen werden halbjährlich Bodenproben gezogen, getrocknet und gemahlen. Anschließend werden die Sporen mittels Nass-Siebverfahren (DRESSLER et al. 2011) und Sedimentation isoliert und die Sporenzahl auf einem Filter bestimmt. Die Keimfähigkeit der Sporen wird untersucht durch Übertragung der Sporen von den Filtern auf Nährböden aus Wasseragar (WILCOXSON et al. 1996). Die Veränderung des Sporenpotenzials im gelagerten Stallmist, der von den jeweiligen Biobetrieben stammt, wird halbjährlich festgestellt.

### Ergebnisse und Diskussion

Die im Labor entwickelte Isolierungsmethode zur Bestimmung der Sporenzahl im Boden wies bei einem Zusatz von ca. 100 Zwergsteinbrandsporen zu einer definierten Menge sporenfreien Bodens eine Wiederfindungsrate

<sup>1</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Lange Point 6, Labor 2, D-85354 FREISING

<sup>2</sup> TU-München, Lehrstuhl für Ökologischen Landbau und Pflanzenbausysteme, Alte Akademie 12, D-85354 FREISING

\* Ansprechpartner: Robert BAUER, robert.bauer@LfL.bayern.de

zwischen 30% und 50% auf und übertraf damit andere in der Literatur beschriebene Methoden zur Sporenisolierung. So haben BABADOOST und MATHRE (1998) von etwa 100 einer Bodenprobe zugesetzten Zwergsteinbrandsporen nur 19,3% wiedergefunden. Da Steinbrandsporen im Mittel etwas kleiner sind als Zwergsteinbrandsporen, ist die Wiederfindungsrate derzeit noch geringer. Es werden umfangreiche Versuchsreihen zur Erhöhung der Wiederfindungsrate durchgeführt.

Gründe, warum nicht alle Sporen im Boden erfasst werden, sind unter anderem in der festen Haftung der Brandsporen an Bodenpartikeln zu suchen. Bisher durchgeführte Untersuchungen zeigen, dass die Wiederfindungsrate nicht von der Bodenart abzuhängen scheint. Ein Teil der Sporen passiert das kleinste Sieb mit der Maschenweite von 15 µm. Ein Sieb mit kleinerer Maschenweite kann unter vorliegenden Laborbedingungen nicht eingesetzt werden, da ein Wasserdurchfluss bei zu engen Maschen nicht mehr stattfindet. Die spezifische Dichte der Brandsporen ist ebenfalls nicht einheitlich. Das führt beim Sedimentationsprozess dazu, dass ein Teil der Sporen mit zu hoher spezifischer Dichte nicht erfasst werden kann.

Interessante Ergebnisse wurden beim Stallmist festgestellt (Abbildung 1). Zu Versuchsbeginn wurde im Herbst 2011 auf allen drei Standorten auf der Hälfte der Parzellen Stallmist ausgebracht. Während der Ausbringung wurden Stichproben vom Stallmist entnommen und in einem Behälter gesammelt. Anschließend wurde der Stallmist auf Brandsporen untersucht. Beim Steinbrand wurde im Stallmist vom Betrieb aus Oberndorf der höchste Befall mit 2813 Sporen in 10 g festgestellt. Die Stallmistproben von den drei Betrieben werden im Labor gelagert und halbjährlich auf Brandsporen untersucht, um zu sehen, ob und in welchem Umfang sich das Brandsporenpotenzial im gelagerten Stallmist verändert. Bereits ein halbes Jahr später, im Frühjahr 2012, hat sich das Steinbrandsporenpotenzial um mehr als 85% reduziert. Nach einem Jahr Lagerung fand zum Teil noch eine weitere Reduzierung der Sporenzahl im Stallmist statt. Nur mehr ca. 2% Sporen wurden festgestellt im Vergleich mit den Anfangswerten. Eine Ausnahme bildete der Stallmist vom Betrieb aus Oberndorf. Hier war der Wert höher als zu Untersuchungsbeginn vor einem Jahr. Ursache dafür ist, dass sich durch den Rotteprozess eine oder mehrere Brandbutten zersetzt haben und dadurch Brandsporen freigesetzt wurden.

Ähnlich wie beim Steinbrand verlief die Abnahme des Brandsporenpotenzials im Stallmist auch beim Zwergsteinbrand, allerdings nicht ganz so schnell wie beim Steinbrand. Dies ist eine gute Übereinstimmung mit der Tatsache, dass die Steinbrandsporen ca. 5 Jahre im Boden überdauern,

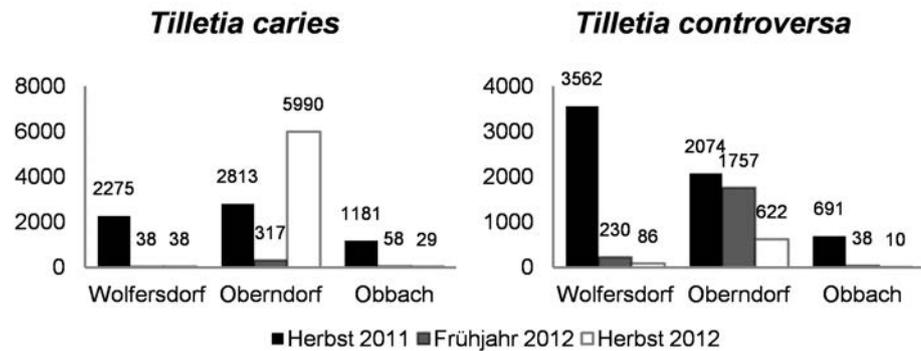


Abbildung 1: Veränderung des Steinbrand- und Zwergsteinbrand-Sporenpotenzials im Stallmist der drei Herkunftsorte Wolfersdorf, Oberndorf und Obbach während der Lagerung im Zeitraum Herbst 2011 bis Herbst 2012

Figure 1: Influence of storage time on the amount of common and dwarf bunt spores in stable manure from three different farms

während die Zwergsteinbrandsporen 10 Jahre im Boden nachgewiesen werden können. Zu beobachten war auch, dass der Trockensubstanzgehalt des Stallmistes einen Einfluss auf die Abnahme des Sporenpotenzials hat. Je trockener der Stallmist ist, umso geringer ist die Abnahme des Sporenpotenzials im Laufe der Lagerung.

Als schwierig gestaltet sich die Keimung der Brandsporen aus dem Boden. Es gilt, die Zahl der keimfähigen Sporen in Bezug auf die Gesamtzahl der Sporen in 10 g Boden zu ermitteln. Für die Ermittlung der optimalen Keimbedingungen wurden Brandsporen aus der Brandbutte auf Nährböden aus 2%igem Wasseragar in Petrischalen ausgebracht. Um konkurrierende Mikroorganismen (Schimmelpilze, Bakterien) zu unterdrücken, wurden dem Nährboden Antibiotika zugesetzt. Für Steinbrand ergab sich eine optimale Keimtemperatur von 16°C und eine durchschnittliche Keimdauer von 6 Tagen. Beim Zwergsteinbrand waren 5°C optimal und die Keimung fand nach ca. 28 Tagen statt. Die Keimung der Sporen aus dem Boden gestaltet sich schwierig. Es ist bisher nicht gelungen die Faktoren herauszufinden, die die Keimung blockieren bzw. in Gang setzen.

## Danksagung

Bei meinen Kolleginnen und Kollegen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft, insbesondere der AG Saatgutuntersuchung und Saatgutforschung, die mich bei der Durchführung des Projektes tatkräftig unterstützen, bedanke ich mich herzlich. Mein ganz besonderer Dank geht an das Bayerische Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten für die finanzielle Förderung.

## Literatur

- BABADOOST M, MATHRE DE, 1998: A method for extraction and enumeration of teliospores of *Tilletia indica*, *T. controversa*, and *T. barclayana* in soil. Plant Dis 82, 1357-1361.
- DRESSLER M, VOIT B, BÜTTNER B, KILLERMANN B, 2011: Mehrjährige Ergebnisse zur Strategie gegen Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) und Steinbrand (*Tilletia caries*) im ökologischen Getreidebau. VDLUFA Schriftenreihe 67, 460-467.
- WILCOXSON RD, SAARI EE, 1996: Bunt and smut diseases of wheat. Concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico, DF.

## Probleme mit Auswinterung, Trockenstress, Virose, Spätfrost und Zwiewuchs bei Weizen und Wintergerste im Jahr 2012 in Österreich

### Problems with winterkill, drought, virus diseases, late spring frost and secondary tillering of winter wheat and winter barley in Austria in 2012

Michael Oberforster<sup>1\*</sup>

#### Abstract

This study examines the effect of winterkill, drought, *wheat dwarf virus*, late spring frost and secondary tillering on winter barley and winter wheat. The findings are based on results of exact trials and observations of agricultural practices. Reasons for winterkill may vary greatly. If the damages are allocated as precisely as possible to the main causes (i.e. low temperature, snow mold infestation, *Typhula* rot), G×E interactions are significantly reduced. In 2012 temperatures -15 to -22°C in the first half of February was decisive. The extent of damage assessed in VCU trials was mostly well reproduced over the different environments (winter barley:  $r=0.64^{**}$  to  $0.90^{**}$ ; winter wheat:  $r=0.32$  n.s. to  $0.90^{**}$ ). From October 2011 to May 2012 parts of the Pannonian region received only 130 to 180 mm of precipitation. In the wheat nursery the symptoms of drought stress, i.e. leaf rolling and spike tip sterility, were investigated. Results from 2011 and 2012 showed a repeatability of  $r=0.47^*$  to  $0.72^{**}$  (leaf rolling) and  $r=0.70^{**}$  to  $0.88^{**}$  (spike tip sterility). However, neither parameter is always well suited for determining the drought tolerance of genotypes. In the northeast of the country, *wheat dwarf virus* (WDV) often appeared on winter wheat. The plants were infected predominantly in spring and to a limited degree in autumn. In the northeastern plains and hills, in the eastern foothills of the Alps and in Waldviertel (northwest of Lower Austria), the temperature dropped to +3 to -6 °C during the night of 17-18 May. On cereals (especially winter barley, winter wheat, and rye) this late spring frost sometimes led to partial or complete sterility. In June and July cereals showed a great degree of secondary tillering regionally. Especially affected were plant populations that had suffered from winterkill, drought, late spring frost or *wheat dwarf virus* infections.

#### Keywords

*Hordeum vulgare*, leaf rolling, spike tip sterility, spring freeze injury, *Triticum aestivum*, *wheat dwarf virus*, winter hardiness

#### Einleitung

Das Jahr 2012 verlief für einige Getreideproduktionsgebiete Österreichs ungünstig. Eine Folge von Widrigkeiten - Aus-

winterung, ausgeprägte Trockenheit, Schädigung durch Spätfrost, viröse Weizenverzweigung und Zwiewuchs - führte in der Landwirtschaft vielfach zu enttäuschenden Ergebnissen. Die Kornerträge mancher Arten blieben gravierend unter dem langjährigen Mittel. Bei Winterweizen wurden landesweit nur 42,4 dt·ha<sup>-1</sup> geerntet. In Niederösterreich waren es durchschnittlich 36,2 dt·ha<sup>-1</sup>, so wenig wie zuletzt 1981. In neun Bezirken (Baden, Bruck an der Leitha, Gänserndorf, Hollabrunn, Korneuburg, Mistelbach, Mödling, Wiener Neustadt Land, Wien Umgebung) des nordöstlichen Flach- und Hügellandes, welche insgesamt 43,3% (121500 ha) der österreichischen Weizenfläche repräsentieren, variierte der mittlere Weizenenertrag von 26,1 bis 37,6 dt·ha<sup>-1</sup> (STATISTIK AUSTRIA 2012). In dieser Arbeit werden Ergebnisse der amtlichen Sortenwertprüfung von Wintergerste (*Hordeum vulgare* L.) und Winterweizen (*Triticum aestivum* L.) präsentiert sowie über Beobachtungen aus der landwirtschaftlichen Praxis berichtet.

#### Material und Methoden

##### Auswinterung

Bei Wintergerste werden Daten der Versuche Großnondorf (Gro, Bez. Hollabrunn), Reichersberg (Rei, Bez. Ried im Innkreis) und Bad Wimsbach-Neydharting (Wim1, Wim2, Bez. Wels-Land) mitgeteilt. Bei Winterweizen (Feuchtlagensortiment) sind es die Standorte Reichersberg (Rei1), Freistadt (Fre, Bez. Freistadt) und Schönfeld (Sch1, Bez. Zwettl). Die einfaktoriellen Versuche waren als Gitteranlagen mit drei- bis vierfacher Wiederholung der Prüfglieder und Parzellen von 8,1 bis 12,0 m<sup>2</sup> konzipiert. Einbezogen wurden auch Weizenregister mit zwei Wiederholungen und Parzellen von 3,8 bis 5,0 m<sup>2</sup>. Es handelt sich um die Versuche Grabenegg (Gra, Bez. Melk), Reichersberg (Rei2) und Schönfeld (Sch2). Die Beurteilung der Symptome erfolgte gemäß den Richtlinien für die Sortenprüfung (BFL 2002). Dabei bedeutet die Note 1 keine Auswinterungsschäden, die Note 5 mittlere Schäden und die Note 9 sehr starke Schäden. Zumeist erfolgte die Bonitur an zwei bis vier Terminen (Wintergerste: 3. März bis 3. April; Winterweizen: 3. März bis 19. April); verrechnet wurden die Mittelwerte. Die zeitlich späteren Erhebungen zeigen das Ausmaß der Erfrierungen mitunter präziser an bzw. schließen die Fähigkeit der Pflanzen zur Regeneration mit ein.

<sup>1</sup> Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

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

## Trockenstress

Bei Winterweizen wurden das Blattrollen und die Ährenspitzensterilität als morphologische Parameter von Trockenstress untersucht. Es handelt sich um die pannonischen Standorte Fuchsenbigl (Fuc, Bez. Gänserndorf), Andau (And, Bez. Neusiedl am See) und Mistelbach (Mis, Bez. Mistelbach). Die Beurteilung erfolgte nach dem Schema von 1 bis 9 (1, kein Blattrollen, keine sterilen Ährenspitzen; 9, sehr starkes Blattrollen, in sehr hohem Ausmaß sterile Ährenspitzen). Die Erhebung wurde an ein bis zwei Terminen der Jahre 2011 und 2012 durchgeführt (Blattrollen: 17. Mai bis 16. Juni, BBCH 37-73; Ährenspitzensterilität: 31. Mai bis 10. Juni, BBCH 65-71).

## Spätfrost, Zwiewuchs

Es werden Ergebnisse des Versuches Atzenbrugg (Bez. Tulln) mitgeteilt. Die Symptome wurden am 20. Juli nach dem Schema von 1 bis 9 (1, kein Spätfrostschaden, kein Zwiewuchs; 9, sehr starker Spätfrostschaden, sehr starker Zwiewuchs) erfasst.

## Ergebnisse und Diskussion

### Auswinterung

Die Ausprägung der Winterhärte von Pflanzen ist das Ergebnis zahlreicher externer und interner Faktoren (FOWLER und GUSTA 1979). Entscheidend sind die einwirkende Temperatur, die Lichtintensität und die zeitliche Dauer der Akklimatisation. Für den Schädigungsgrad der Saaten sind die tiefsten Temperaturen, die Dauer der Frostperiode, eine eventuelle Isolierung durch Schnee, der Abhärtungsgrad, das Entwicklungsstadium und die genetische Konstitution der Sorten bestimmend. Weiters können der Bodenschluss, die Bodenfeuchte, die Gesundheit des Saatgutes, die Ablagetiefe der Körner, die Versorgung mit Nährstoffen sowie eventuelle Pflanzenschäden durch im Herbst angewandte Herbizide die Überwinterung positiv oder negativ beeinflussen. Auswinterungsdaten sind aufgrund heterogener Bodenbedingungen, einer ungleichen Schneebedeckung usw. oftmals mit einem erheblichen Versuchsfehler behaftet (FOWLER 1979). Zwischen dem 2. und 13. Februar 2012 fiel die Temperatur (Messhöhe 2 m) am Standort Fuchsenbigl auf -12 bis -16°C, in Großnondorf auf -13 bis -20°C, in Grabenegg auf -11 bis -22°C sowie in Freistadt und Schönfeld auf -13 bis -22°C (Abbildung 1). Ab dem 6. bzw. 7. Februar waren die Pflanzen durch wenige Zentimeter Schnee etwas geschützt.

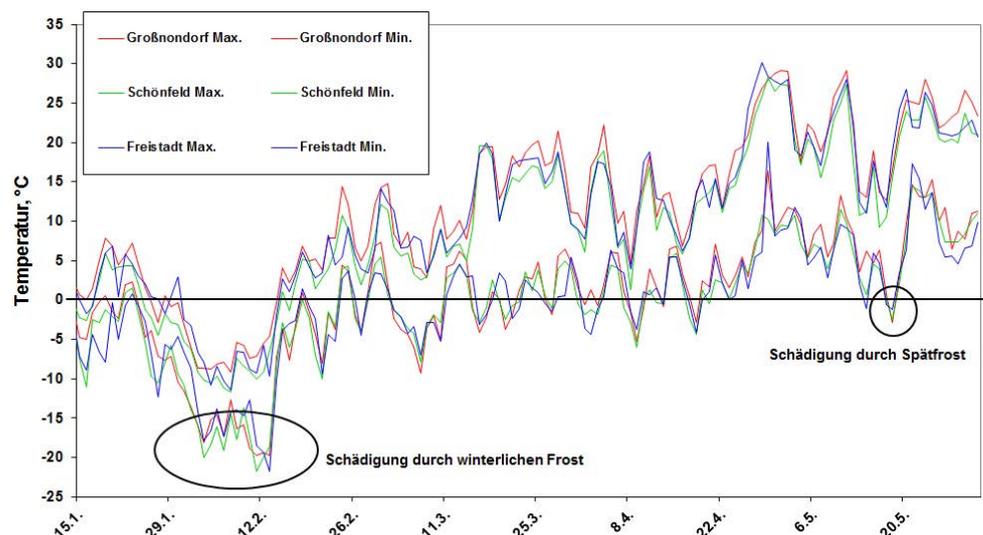
**Tabelle 1: Auswinterung durch Frost (Bonitur 1-9) in Wertprüfungen von Wintergerste und intervarietale Korrelationen (r) (4 Versuche von 2011/12, 20 Sorten)**

**Table 1: Winterkill by freezing (scale of 1-9) in VCU trials of winter barley and intervarietal correlations (r) (4 trials 2011/12, 20 cultivars)**

Sorte (Zeiligkeit <sup>1</sup> )	Gro	Rei	Wim1	Wim2	Mittel
Christelle (M)	7,0	4,0	5,0	5,7	5,4
KWS Cassia (Z)	5,6	2,5	3,3	3,3	3,7
Yatzy (Z)	6,0	2,8	3,3	2,3	3,6
Anemone (Z)	5,8	2,0	3,3	3,3	3,6
Valentina (Z)	5,6	2,5	2,3	3,0	3,4
KWS Scala (Z)	5,8	2,3	2,0	2,3	3,1
Hannelore (Z)	4,1	3,0	2,7	2,3	3,0
Marielle (Z)	4,3	3,0	2,3	1,7	2,8
Semper (Z)	4,5	1,9	2,0	1,7	2,5
Wendy (M)	4,1	2,3	2,0	1,3	2,4
Henriette (M)	3,8	2,4	1,3	2,0	2,4
Saphira (M)	3,7	2,8	1,3	1,7	2,4
Susi (M)	4,5	1,9	1,3	1,7	2,4
Arcanda (Z)	4,4	1,5	1,3	1,7	2,2
Sandra (Z)	3,9	1,3	1,7	1,7	2,2
Gloria (Z)	3,2	1,8	1,3	2,0	2,1
KWS Meridian (M)	4,0	1,8	1,0	1,0	2,0
Precosa (Z)	3,7	1,4	1,0	1,0	1,8
Reni (Z)	2,8	1,3	1,0	1,0	1,5
SU Vireni (Z)	2,4	1,4	1,0	1,0	1,5
Gro	-	0,64**	0,85**	0,82**	0,92**
Rei		-	0,76**	0,72**	0,82**
Wim1			-	0,90**	0,96**
Wim2				-	0,95**

<sup>1</sup> M, mehrzeilig; Z, zweizeilig; \*, \*\*, signifikant bei  $P < 0,05$  bzw.  $P < 0,01$

Die Fröste schädigten sämtliche Wintergetreidearten mit Ausnahme von Roggen. In erster Linie waren Saaten im nordöstlichen Flach- und Hügelland, im Alpenvorland sowie im Mühl- und Waldviertel betroffen. Österreichweit wurden etwa 19000 ha, das sind knapp 4% der Wintergetreidefläche



**Abbildung 1: Tagestemperatur (°C, Maximal- und Minimalwert) an drei Standorten von 1. Jänner bis 30. Mai 2012**

**Figure 1: Daytime temperature (°C, maximum and minimum value) at three locations from 1 January to 30 May 2012**

umgebrochen (Österreichische Hagelversicherung, pers. Mitteilung). Insgesamt dürften schätzungsweise 30 bis 40% des Wintergetreides geringfügig bis deutlich beeinträchtigt gewesen sein. Zuletzt gab es im Jahr 2003 derart gravierende Frostschäden.

Wintergerste und Winterweizen zeigten eine signifikante genotypische Variabilität der winterlichen Frosthärte. Die Gerstensorten 'Gloria', 'KWS Meridian', 'Precosa', 'Reni', 'Sandra' und 'SU Vireni' haben die Fröste deutlich besser überdauert als 'Anemone', 'Christelle', 'KWS Cassia', 'KWS Scala', 'Valentina' und 'Yatzy' (Tabelle 1). Dass Genotypen auch jahresspezifisch reagieren können, ist nicht ungewöhnlich. Die Sorte 'Reni' präsentierte sich im Jahr 2012 deutlich frosthärter als in der Vergangenheit. Bei den Weizen des östlichen Trockengebietes fielen 'Adesso', 'Angelus', 'Arnold', 'Capo', 'Element', 'Estevan' und 'Lucio' positiv auf. 'Fulvio', 'Lukullus', 'Pedro' und 'Xerxes' hatten mehr unter dem Frost gelitten (Ergebnisse nicht dargestellt). Bei günstigen Wuchsbedingungen können sich mäßig geschädigte Bestände oft rasch erholen. In der pannonischen Region war dies wegen der Trockenheit im März und April 2012 nur eingeschränkt der Fall. Von den in Feucht- und Übergangslagen getesteten Weizen tolerierten 'Arktis', 'Kerubino', 'Mulan', 'Norenos', 'Papageno' und 'Sailor' die Kälte vergleichsweise gut. 'Antonius', 'Chevalier', 'Hewitt', 'Lukullus', 'Pedro' und 'Winnetou' wurden stärker ausgedünnt (Tabelle 2).

Die Ausprägung der Symptome war über die Umwelten mehrheitlich signifikant reproduzierbar (Wintergerste:  $r=0,64^{**}$  bis  $0,90^{**}$ ; Winterweizen:  $r=0,32$  n.s. bis  $0,90^{**}$ ). Eine geringe Übereinstimmung zeigten lediglich die Weizenregister Rei2 und Sch2. Die Begründung liegt in der verminderten Zahl an Wiederholungen und einer zeitweiligen sowie ungleichen Vernässung im Versuch Sch2. Die unterschiedliche Pflanzenentwicklung (Wintergerste: BBCH 23-27; Winterweizen: BBCH 13-25) änderte die Sortenrangfolgen nur wenig. Ein oft erwähnter erheblicher Umwelteinfluss auf die sortenbedingte Auswinterung beruht teilweise auf der Vermengung der einwirkenden Faktoren. Werden die durch winterlichen Frost, Schneeschimmel (*Microdochim nivale*) oder Typhulafäule (*Typhula incarnata*, *T. ishikariensis*) verursachten Schäden separiert, verhalten sich die Sorten einheitlicher. Die G×U-Wechselwirkungen des Merkmals Frosthärte sind wesentlich geringer als bei der Trockenheitstoleranz.

Die Verrechnung langjähriger Datenreihen der österreichischen Wertprüfung belegt, dass es bei der Frostfestigkeit von Wintergerste und Weizen in den letzten drei Jahrzehnten keinen züchterischen Fortschritt im Sinne eines signifikanten Trends gibt. Bereits in den 1970er und 1980er Jahren waren Sorten mit ausgeprägter Winterhärte verfügbar. Die ehemals registrierten Wintergersten 'Bomba', 'Dura', 'Judith', 'Probstdorfer Robusta', 'Rachel', 'Rebekka', 'Renta' und die Weizen 'Agron', 'Amadeus', 'Extrem',

Tabelle 2: Auswinterung durch Frost (Bonitur 1-9) in Wertprüfungen von Winterweizen und intervarietale Korrelationen (r) (6 Versuche der Feucht- und Übergangslagen 2011/12, 18 Sorten)

Table 2: Winterkill by freezing (scale of 1-9) in VCU trials of winter wheat and intervarietal correlations (r) (6 trials from the humid region 2011/12, 18 cultivars)

Sorte (Backqualität <sup>1</sup> )	Gra	Rei1	Rei2	Fre	Sch1	Sch2	Mittel
Winnetou (F)	4,0	3,5	3,8	7,3	8,3	8,8	6,0
Chevalier (M)	5,0	3,2	3,8	6,1	5,8	4,0	4,7
Lukullus (Q)	4,0	3,2	3,5	6,3	4,9	6,0	4,7
Pedro (M)	4,7	3,3	4,0	5,5	5,9	4,5	4,7
Hewitt (F)	3,2	3,0	3,3	6,5	5,0	6,3	4,6
Antonius (Q)	2,2	3,1	3,5	6,6	6,7	4,3	4,4
Justinus (M)	2,8	2,8	3,0	6,9	5,5	4,0	4,2
Henrik (F)	2,5	3,2	4,5	5,0	5,1	3,1	3,9
Plutos (M)	3,0	3,1	3,3	5,4	4,7	3,5	3,8
Richard (Q)	2,8	2,8	3,0	4,8	4,5	4,5	3,7
Estivus (M)	2,2	2,7	3,3	5,3	4,6	3,1	3,5
Sax (M)	2,2	2,6	3,3	4,5	4,5	2,1	3,2
Kerubino (M)	2,5	2,6	2,3	4,8	2,0	4,6	3,1
Mulan (M)	2,2	2,7	3,3	3,9	3,8	2,0	3,0
Norenos (Q)	1,5	2,3	3,5	3,9	3,2	2,8	2,9
Papageno (F)	1,0	2,2	2,5	3,4	2,2	3,8	2,5
Sailor (M)	1,7	2,0	2,3	2,4	1,0	1,3	1,8
Arktis (Q)	1,0	1,9	2,5	1,8	1,2	1,5	1,7
Gra	-	0,84**	0,58**	0,72**	0,70**	0,61**	0,83**
Rei1		-	0,78**	0,87**	0,90**	0,70**	0,94**
Rei2			-	0,56**	0,76**	0,32	0,69**
Fre				-	0,89**	0,78**	0,94**
Sch1					-	0,68**	0,94**
Sch2						-	0,84**

<sup>1</sup> F, Futterweizen; M, Mahlweizen; Q, Qualitätsweizen; \*, \*\* signifikant bei  $P<0,05$  bzw.  $P<0,01$

‘Karat’, ‘Martin’, ‘Perlo’, ‘Pokal’ zeigen diesbezüglich ein ähnliches Niveau wie die aktuellen Sorten ‘Precosa’ und ‘SU Vireni’ bzw. ‘Norenos’ und ‘Papageno’. Jedenfalls ist im Zuchtmaterial eine ausreichende genetische Variabilität vorhanden. Auch die Tatsache, dass die Winterfestigkeit in Konkurrenz mit anderen Werteigenschaften steht, erklärt nicht den fehlenden Zuchterfolg. Die Hauptursachen sind das unregelmäßige Auftreten schädigender Kälte, der Aufwand für die Etablierung provokativer oder künstlicher Methoden und die meist unbefriedigende Eignung indirekter Parameter. Zudem gilt die Winterhärte bei manchen Züchtern nicht als prioritäres Merkmal. Die markergestützte Selektion auf Frosttoleranz (LEIPNER et al. 2010) hat bei den Getreidezüchtern bisher kaum Eingang gefunden. Standorte mit extremen klimatischen Bedingungen oder Jahre mit differenzierter Schädigung eignen sich am besten zur Beurteilung der Winterfestigkeit von Getreidesorten.

### Trockenheit

Trockenheit ist ein bedeutsamer Umweltfaktor, der die Nutzung des genetischen Ertragspotenzials begrenzt. Je nach Ausmaß des Wassermangels werden zahlreiche Stoffwechselfvorgänge in Mitleidenschaft gezogen. Bei der Ertragsreaktion treten in hohem Maße G×U-Wechselwirkungen auf (BLUM 1989). Ergebnisse in frühen Wachstumsstadien lassen kaum Aussagen über die Dürretoleranz in späteren Stadien zu.

Vor allem im nordöstlichen Flach- und Hügelland gab es vom Herbst bis ins Frühjahr zuwenig Niederschlag. In den acht Monaten von Oktober 2011 bis Mai 2012 wurden an den Stationen Hohenau, Poysdorf und Mistelbach nur 131 bis 176 mm gemessen, das sind 47 bis 60% des Normwertes (Tabelle 3). Da in der Vegetationsperiode zeitweilig auch überdurchschnittliche Temperaturen herrschten, wirkte sich dies höchst ungünstig auf die Ertragsbildung aus.

Es wurden zahlreiche physiologische, morphologische und phänologische Merkmale als Indikatoren für Trockentoleranz beschrieben (PALEG und ASPINALL 1981, VAN GINKEL et al. 1998). Im Folgenden werden das Einrollen der Blätter und die Ährenspitzensterilität von Winterweizen als morphologische Parameter der Dürretoleranz untersucht.

Das Blattrollen ist ein Ausdruck des Welkens und tritt vorwiegend bei Poaceae auf. Es kann als adaptives Element zur Vermeidung von Blattseneszenz angesehen werden. Spätere Regenfälle sind dadurch von den Pflanzen besser nutzbar (RICHARDS et al. 2001). Das Einrollen der Blätter verringert die Transpiration und den Wasserverbrauch. Dennoch sind Genotypen, welche bei Trockenstress den Turgor in den Zellen länger aufrechterhalten, d.h. mit geringerem Blattrollen reagieren, zu bevorzugen. Sie verfügen offensichtlich über ein tiefer reichendes oder effizienteres Wurzelsystem und schaffen damit einen besseren Zugang zu Bodenwasser (BLUM 2011).

Die in den Jahren 2011 und 2012 in drei Versuchen erhobenen Daten lassen eine beachtliche genotypische Variabilität erkennen. Die Sorten ‘Midas’, ‘Lukullus’, ‘Vulcanus’ und ‘Xerxes’ waren weniger davon betroffen als ‘Capo’, ‘Element’, ‘Energio’, ‘Lucio’ und ‘Norenos’ (Tabelle 4). Die Genotypen reagierten in den Einzelumwelten ähnlich ( $r=0,47^*$  bis  $0,72^{**}$ ). Allerdings erschwert die meist schwach ausgeprägte Beziehung zu Ertragsparametern die züchterische Nutzbarkeit. In einer von 2005 bis 2007 bei Winterweizen durchgeführten Prüferserie war das Blattrollen intervarietal nur lose ( $r=0,55^*$  bzw.  $0,41$  n.s.) mit dem Ertragsverlust assoziiert (OBERFORSTER und FLAMM 2007). Unterschiede im Blattrollen könnten auch von der Blattmorphologie etwas beeinflusst sein (JONES 1979).

Die Basalsterilität der Ähren ist zumeist das Ergebnis erhöhter zwischen- und innerpflanzlicher Konkurrenz infolge einer übermäßigen Bildung von Bestockungstrieben. Hingegen bedeutet eine während des Schossens auftretende Trockenperiode neben der Triebreduktion oftmals eine markante Rückbildung terminaler Ährchen. Bei Weizen äußert sich dies in weißlichen und verkümmerten Ährenspitzen (Abbildung 2). Bei extremer Wasserarmut kann die Hälfte der Ährchen reduziert sein. In den Prüfungen von 2011 und 2012 zeigten sich die Sorten ‘Capo’, ‘Element’, ‘Energio’ und ‘Norenos’ stärker davon betroffen. In wesentlich geringerem Ausmaß bildeten ‘Arnold’, ‘Lucio’, ‘Lukullus’, ‘Pedro’ und ‘Xerxes’ Ährchen zurück (Tabelle 5). Die Sorten verhielten sich in den vier Versuchen ähnlich ( $r=0,70^{**}$  bis  $0,88^{**}$ ). Genotypische Unterschiede in der Zeitigkeit des

**Tabelle 3: Niederschläge (mm) an drei Standorten des nordöstlichen Flach- und Hügellandes von Oktober 2011 bis Juli 2012 (Monatssumme, Abweichung vom langjährigen Monatsmittel)**

**Table 3: Precipitation (mm) at three locations of the northeastern plains and hills from October 2011 to July 2012 (monthly sum, deviation from long-term monthly average)**

Monat	Hohenau		Poysdorf		Mistelbach	
	Absolut	Abweichung	Absolut	Abweichung	Absolut	Abweichung
Oktober	27	-3	34	+1	42	+10
November	1	-42	1	-40	2	-35
Dezember	14	-20	14	-20	18	-18
Jänner	27	±0	37	+7	42	+13
Februar	15	-10	20	-9	22	-7
März	6	-22	7	-27	11	-27
April	20	-18	24	-17	30	-6
Mai	21	-32	15	-41	8	-46
Juni	66	+4	119	+60	116	+44
Juli	52	-12	113	+55	90	+19
Σ Oktober - Mai	131	-147	152	-146	176	-116
Σ Oktober - Juli	249	-155	374	-31	374	-53

Quelle: ZAMG, LFS Mistelbach

**Tabelle 4: Blattrollen als Symptom von Trockenstress (Bonitur 1-9) in Wertprüfungen von Winterweizen und intervarietale Korrelationen (r) (3 Versuche von 2011-2012, 19 Sorten)**

**Table 4: Leaf rolling as a symptom of drought stress (scale of 1-9) in VCU trials of winter wheat and intervarietal correlations (r) (3 trials from 2011-2012, 19 cultivars)**

Sorte (Backqualität <sup>1</sup> )	And11	Mis11	And12	Mittel
Capo (Q)	7,8	6,0	7,5	7,1
Element (Q)	6,5	6,7	7,3	6,8
Norenos (Q)	6,0	6,3	7,3	6,5
Energo (Q)	6,7	7,0	5,5	6,4
Lucio (Q)	4,0	7,5	5,5	5,7
Adesso (Q)	4,5	5,0	6,5	5,3
Pannonikus (Q)	5,3	5,3	4,8	5,1
Estevan (Q)	4,5	5,0	5,8	5,1
Pedro (M)	5,0	5,3	4,8	5,0
Arnold (Q)	2,8	5,5	6,8	5,0
Albertus (Q)	3,5	4,8	6,5	4,9
Astardo (Q)	3,3	5,2	5,5	4,7
Fulvio (Q)	4,0	5,0	4,5	4,5
Angelus (Q)	2,7	3,3	6,3	4,1
Antonius (Q)	3,0	3,0	6,3	4,1
Midas (Q)	3,3	3,8	4,0	3,7
Lukullus (Q)	2,8	3,3	4,8	3,6
Vulcanus (Q)	2,8	2,8	3,5	3,0
Xerxes (M)	2,5	3,7	2,5	2,9
And11	-	0,72**	0,50*	0,89**
Mis11		-	0,47*	0,87**
And12			-	0,77**

<sup>1</sup> Abkürzungen siehe *Tabelle 2*

Ährenschiebens übten keinen Einfluss aus. Jedoch wäre es eine unzulässige Vereinfachung, das Ausmaß steriler Ährenspitzen mit den Ertragseinbußen gleichzusetzen. Denn eine Reduktion von Blütenanlagen bei Aufrechterhaltung der Funktionalität von Ährchen ist visuell wenig auffällig. Weiters ermöglicht das Tausendkorngewicht als zuletzt realisierte Ertragskomponente einen gewissen Ausgleich.

Hinsichtlich Blattrollen und Ährenspitzensterilität reagieren die Sorten ähnlich (z.B. 'Capo', 'Element', 'Energo', 'Lukullus', 'Norenos') bis deutlich abweichend (z.B. 'Lucio'). Die Ergebnisse deuten eine mangelhafte Adaptation von 'Capo', 'Element' oder 'Energo' an die Bedingungen der pannonischen Region an. Dem widerspricht allerdings, dass die genannten Sorten bedeutende Anbauflächen einnehmen.

Für die Züchtung auf Dürretoleranz ist besonders herausfordernd, dass die Ertragsreaktion der Genotypen über die Umwelten oft wenig reproduzierbar ist. Dies hängt einerseits mit den komplexen Anlage- und Reduktionsprozessen der Ertragskomponenten zusammen. In Abhängigkeit vom Entwicklungsstadium, in welchem der Trockenstress die Pflanzen trifft, können die Sortenrangfolgen sehr verschieden sein. Andererseits wirken Trockenheit und Hitze oftmals gemeinsam und sind dann in ihren Effekten nicht voneinander zu isolieren. Auch sind die Methoden zur Charakterisierung der Genotypen mitunter ungenau oder erfordern einen hohen zeitlichen Aufwand (FLAMM et al. 2013). Durch Kombination mehrerer Merkmale und Einbeziehung von zur Trockenheit neigenden Selektionsstandorten ist eine verbesserte Adaptation zukünftiger Weizensorten an ein knappes Wasserangebot möglich (PAUK et al. 2010). Rasche züchterische Fortschritte in der Reaktion des Getreides auf Trockenstress sind jedoch nicht zu erwarten.

**Tabelle 5: Ährenspitzensterilität als Symptom von Trockenstress (Bonitur 1-9) in Wertprüfungen von Winterweizen und intervarietale Korrelationen (r) (4 Versuche von 2011-2012, 13 Sorten)**

**Table 5: Spike tip sterility as a symptom of drought stress (scale of 1-9) in VCU trials of winter wheat and intervarietal correlations (r) (4 trials from 2011-2012, 13 cultivars)**

Sorte (Backqualität <sup>1</sup> )	And11	Fuc12	And12	Mis12	Mittel
Capo (Q)	3,5	5,5	4,8	4,7	4,6
Norenos (Q)	4,5	6,0	3,0	4,8	4,6
Element (Q)	4,5	4,5	4,5	4,0	4,4
Energo (Q)	4,3	4,5	4,8	3,0	4,2
Albertus (Q)	3,3	4,0	3,3	2,8	3,4
Astardo (Q)	3,3	3,0	3,0	2,8	3,0
Adesso (Q)	3,3	2,5	3,0	2,8	2,9
Angelus (Q)	2,7	3,0	3,0	2,2	2,7
Arnold (Q)	2,8	2,0	2,8	2,0	2,4
Xerxes (M)	2,3	2,0	2,0	2,5	2,2
Lukullus (Q)	2,0	2,0	2,0	1,7	1,9
Pedro (M)	2,3	1,0	1,5	2,3	1,8
Lucio (Q)	1,5	2,0	1,3	1,2	1,5
And11	-	0,83**	0,83**	0,83**	0,94**
Fuc12		-	0,78**	0,88**	0,95**
And12			-	0,70**	0,89**
Mis12				-	0,92**

<sup>1</sup> Abkürzungen siehe *Tabelle 2*

## Viröse Weizenverzweigung

Die Krankheit wurde von VACKE (1961) erstmals als viröse Weizenverzweigung (WDV) beschrieben. Sämtliche Untersuchungen der vergangenen Jahrzehnte bestätigen, dass das Virus nur mittels Saugtätigkeit einer Zwergzikade, der Wandersandzirpe (*Psammotettix alienus*), verbreitet wird. Für eine erfolgreiche Übertragung genügen bereits wenige Minuten Saugzeit. Ausfallgetreide stellt die Hauptinfektionsquelle des WDV für Neuansaat dar. Wild- und Kulturgräser folgen in ihrer Bedeutung an zweiter Stelle (MEHNER et al. 2003). Im Frühjahr aus den Dormanzstadien schlüpfende Larven sind zunächst nicht infektiös; sie nehmen die Viren durch Saugen an befallenen Pflanzen auf. Winterweizen kann sowohl im Herbst als auch im Frühjahr infiziert werden.

Bei Herbstinfektionen werden die Symptome zumeist erst im März ersichtlich. Der Weizen verfärbt seine Blätter und Triebe gelb bis rotviolett. Viele Pflanzen kommen nicht zum Schossen und sterben ab oder bilden verkürzte Triebe und kümmerliche Ähren. Am Standort Großnondorf wurden von 2007 bis 2012 Weizenversuche mit drei Saatzeiten, drei Sorten und einer Insektizidbeizung für die zweite Fröhsaatvariante durchgeführt. Die Fröhsaat (16. bis 25. September) blieb ertraglich im Mittel um 43% bzw. 35,6 dt·ha<sup>-1</sup> hinter dem Oktobertermin zurück. Die Einbußen sind auf Infektionen mit dem Gerstengelverzweigungsvirus (BYDV) und dem WDV in der letzten September- und ersten Oktoberdekade zurückzuführen. Zusätzlich zur direkten Schädigung durch die Viren sind die Bestände in manchen Jahren mehr von Auswinterung betroffen. Die Insektizidbeizung mit dem Wirkstoff Imidacloprid (Präparat Gaucho 600 FS) brachte stets eine Verbesserung. Dennoch wurde das Ergebnis der Normalsaat (12. bis 17. Oktober) durchschnittlich um 25% bzw. 20,4 dt·ha<sup>-1</sup> unterschritten (*Tabelle 6*). Eine Saatzeit

**Tabelle 6: Kornertrag von Winterweizen (Rel.-%, dt-ha<sup>-1</sup>) in Abhängigkeit von Saatzeit, Insektizidbeizung (IB) und Infektionen im Herbst mit insektenübertragenen Viren (BYDV, WDV) (6 Versuche am Standort Großnondorf von 2006/07-2011/12, Mittel aus jeweils 3 Sorten)**

**Table 6: Yield of winter wheat (Rel.-%, dt-ha<sup>-1</sup>) as a function of sowing date, insecticide treatment and infections with insect-transmitted viruses (BYDV, WDV) in autumn (6 trials at the Großnondorf location from 2006/07-2011/12, average of 3 cultivars)**

Variante	Saatzeit	Kornertrag <sup>1</sup>						Mittel	BYDV, WDV <sup>2</sup>
		2007	2008	2009	2010	2011	2012		
Frühsaat	16/09-25/09	62	73	67	4	89	25	57	4,4
Frühsaat + IB	16/09-25/09	89	93	86	24	95	46	75	2,8
Normalsaat	12/10-17/10	100	100	100	100	100	100	100	1,0
Spätsaat	12/11-17/11	91	92	87	92	89	91	90	1,0
Mittel (100%) (dt-ha <sup>-1</sup> )		77,9	97,8	82,5	69,2	103,4	69,8	83,4	
GD <sub>5%</sub> (dt-ha <sup>-1</sup> )		4,6	5,1	4,9	3,7	4,9	4,7		

<sup>1</sup> Sorten: Capo, Estevan, Philipp, Saturnus

<sup>2</sup> Mittlere Symptombonitur (BYDV und WDV): 1, kein Befall; 9, sehr starker Befall

um Mitte Oktober bewirkte, dass die Bestände aufgrund der bei kühlerer Temperatur geringen Vektormobilität nahezu virusfrei blieben. Bei Winterweizen ist der Zusammenhang von Saatzeit und Virusinfektionen im Herbst evident.

In der Saison 2011/12 waren Weizenbestände in weiten Teilen des Weinviertels sowie im pannonisch geprägten östlichen Waldviertel von WDV betroffen. Der Befall dürfte überwiegend im zeitigen Frühjahr stattgefunden haben. In der letzten Aprilwoche und Anfang Mai stiegen die Temperaturen tagsüber bereits auf 25 bis 30°C. Infizierte Bestände fielen Ende Mai und im Juni durch leuchtend gelbe Fahnenblätter auf. Teilweise blieben die Ähren in der Blattscheide oder starben während des Herausschiebens ab. Insgesamt zeigten mehrere zehntausend Hektar Winterweizen sowie in geringerem Maße auch Winterdinkel und Winterdurum entsprechende Symptome. Von 18 Verdachtsproben bei Winterweizen konnte WDV allerdings nur in 12 Fällen nachgewiesen werden.

Wegen klimabedingt höherer Temperaturen im Herbst ist langfristig eine zunehmende Bedeutung von durch Insekten übertragenen Viren (BYDV, CYDV, WDV) wahrscheinlich (HABEKUSS et al. 2009). Über genotypische Unterschiede in der Reaktion auf WDV-Befall wurde bereits mehrfach referiert. VACKE und CIBULKA (2000) fanden bei Winterweizen Ertragsverluste je nach Sortenresistenz und Infektionstermin von 21 bis 93%. Allerdings sind bei der virösen Weizenverzweigung im Gegensatz zur virösen Gelbverzweigung bisher keine QTL bekannt (ORDON 2008).

### Spätfrost

Gravierende Schäden von Wintergetreide durch Spätfrost sind in Österreich und Mitteleuropa seltene Ereignisse (RADEMACHER 1950, NEURURER 1957). In den klimatisch begünstigten Niederungen mit weit vorangeschrittener Pflanzenentwicklung treten Maifröste kaum auf. Hingegen ist das Getreide in höheren Lagen des Alpenraumes, des Mühl- und Waldviertels, wo im Mai öfter mit einem Kälteeinbruch gerechnet werden muss, in der Entwicklung noch zurück und damit unempfindlicher.

Das Ausmaß der Schäden hängt von der Dauer des Frostereignisses, der niedrigsten erreichten Temperatur, dem Entwicklungsstadium des Getreides und dem Wassergehalt der Pflanzen ab. Zu Schossbeginn kann Winterweizen Frost

bis -11°C widerstehen; beim Ährenschieben und zur Blüte sind es hingegen nur mehr -1°C. Optimal wachsende und mit Stickstoff versorgte Bestände reagieren sensibler. Hingegen verbessert Trockenstress aufgrund des geringeren Wassergehalts in den Pflanzen die Toleranz gegenüber Spätfrost (WARRICK und MILLER 1999).

Temperaturen von +3 bis -6°C in der Nacht vom 17. auf den 18. Mai 2012 haben Wintergerste, Winterroggen, Triticale, Winterweizen und Winterdurum in einem empfindlichen Entwicklungsstadium getroffen. Schäden gab es im nordöstlichen Flach- und Hügelland, im östlichen Alpenvorland sowie in geringerem Maße im Mühl- und Waldviertel. Mitunter blieb ein erheblicher Teil der Ähren schartig bzw. bei Wintergerste auch völlig taub. Das Sommergetreide überstand die Frostnacht aufgrund der späteren Entwicklung weitgehend problemlos.

Die größten Ausfälle verzeichnete die Wintergerste. Im Pannonikum und östlichen Alpenvorland war das Ährenschieben (BBCH 59) zwischen 28. April und 14. Mai. In der Frostnacht befanden sich manche Bestände noch in der Blüte, überwiegend aber bereits im Stadium der frühen Milchreife. Angelegte Körner starben teilweise ab und schrumpften in der Folge ein. Wegen des geringen Gewichtes behielten partiell oder vollständig sterile Ähren ihre aufrechte Haltung bis zur Reife bei. Bestände mit hohem Anteil geschädigter Ähren erbrachten mitunter nur 3 bis 15 dt-ha<sup>-1</sup> Ertrag. Massiv betroffene Schläge wurden oft noch im Mai in Biogasanlagen verwertet. In den Vergleichsprüfungen zeigten die Sorten 'Anemone', 'Precosa', 'Reni' und 'Semper' etwas mehr Schartigkeit als 'Christelle' und 'KWS Meridian'.

Bei Winterweizen waren die Ähren am 18. Mai vielfach noch in den Blattscheiden verborgen, diese bot allerdings nur wenig Schutz vor der Kälte. Der Spätfrost äußerte sich in einer partiellen Sterilität der Ähren. Im nordöstlichen Flach- und Hügelland zeigten einzelne Bestände einen Anteil bis 15% solcher Ähren. Zumeist war entweder der basale, der mittlere oder obere Teil der Ähre nicht mit Körnern besetzt (Abbildung 2). Ausschlaggebend sind geringfügige Unterschiede im Blühzeitpunkt innerhalb der Ähre. Mitunter waren die Spelzen gelbgrün aufgehellt oder reduziert, sodass nur mehr die Ährenspindel übrig blieb. Bei der Sorte 'Lucio' waren die Symptome ausgeprägter als bei 'Midas', 'Norenos', 'Pedro', 'Vulcanus' und 'Xerxes'. Im