

# 66. Tagung

23.-25. November 2015  
Raumberg-Gumpenstein

Lebensmittel mit höherem Nährwert und optimierte Industrie-  
Rohstoffe - was kann die Pflanzenzüchtung beitragen?

CORNET-Projekt: AmyCtrl - Auswuchs und Amylase-Aktivität  
in Weizen

## **Impressum**

**Tagungsband der 66. Jahrestagung der Vereinigung  
der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs,  
23.-25. November 2015, Raumberg-Gumpenstein**

### ***Herausgeber***

Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs  
Wiener Str. 64  
3100 St. Pölten  
Email: [office@saatgut-austria.at](mailto:office@saatgut-austria.at)  
URL: [www.saatgut-austria.at](http://www.saatgut-austria.at)

### ***Redaktion***

Dr. Anton Brandstetter, Manuela Geppner  
Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs

A.o. Univ.Prof. Dr. Heinrich Grausgruber  
Universität für Bodenkultur Wien

### ***Für den Inhalt verantwortlich***

die Autoren

### ***Druck und Verlag***

Department für Nutzpflanzenwissenschaften  
Universität für Bodenkultur Wien  
Konrad Lorenz Str. 24  
3430 Tulln  
Email: [pflanzenzuechtung@boku.ac.at](mailto:pflanzenzuechtung@boku.ac.at)

© 2016

ISBN-13: 978-3-900932-36-7

## Inhaltsverzeichnis – Table of contents

Alfred MAR 	1
Getreidezüchtung und Lebensmitteltechnologie – Verständnis und Missverständnis in einer Zweckgemeinschaft: Beispiele zu Erfolgen und Fehlentwicklungen	
Clemens ANWANDER 	5
Nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel – „Health Claims Verordnung“	
Karl FISCHER 	7
Requirements of consumers, food trade and processors of agricultural products – Dreams and reality	
Werner ZUSER 	9
Agricultural raw materials for the starch processing industries: Requirements on plant breeding from the processors' point of view	
Gisela WENGER-OEHN, Johann KAPPELMÜLLER 	11
Introducing a new method for the determination of the ATI (amylase-trypsin-inhibitors) content in wheat flour	
Ilka HAASE, Torsten BRENDEL, Jennifer ELSNER, Rainer SCHUBBERT 	13
Differentiation of spelt wheat and soft wheat	
Klemens MECHTLER, Hans FELDER, Elisabeth REITER, Sabrina KUCHLING, Marc LEMMENS 	15
Kolbenfäule bei Körnermais: Mit weniger anfälligen Sorten zu verbesserter Rohstoffqualität	
Marianna RAKSZEGI, Boglárka NÉMETHNÉ KISGYÖRGY, Karolina BEDE, László LÁNG, Zoltán BEDŐ 	21
Altering the dietary fiber content of wheat flour by breeding to improve food nutritional value	
Heinrich GRAUSGRUBER, Christina FUCHS, Klaus ATZGERSDORFER, Johanna BARON, Josua Timotheus OBERLERCHNER, Stefan BÖHMDORFER 	23
Phytochemicals in cereals and their use: A case study on anthocyanins	
Klára ŠTIASNA, Mária PRESINSZKÁ, Tomáš VYHNÁNEK, Václav TROJAN, Eva MRKVICOVÁ, Luděk HRIVNA, Pavel HANÁČEK, Ladislav HAVEL 	29
Sequence variability in genes involved in biosynthetic pathway of anthocyanins in wheat	
Mária PRESINSZKÁ, Klára ŠTIASNA, Tomáš VYHNÁNEK, Václav TROJAN, Eva MRKVICOVÁ, Luděk HRIVNA, Ladislav HAVEL 	31
DNA analysis using molecular markers in coloured wheat	
Julia LAFFERTY, Simone ZIMMERL 	33
Cadmium in Durum	
Theresa ALBRECHT, Volker MOHLER, Michael OBERFORSTER, Lorenz HARTL  	37
Genetic analysis of falling number stability in wheat	
Michael OBERFORSTER, Edit KALMAR, Elisabeth ZECHNER, Theresa ALBRECHT, Lorenz HARTL  	39
Beziehung von Auswuchs, Keimungsindex und Fallzahlstabilität zur Fallzahl unter Belastungsbedingungen bei Winterweizen	
Johann VOLLMANN, Daisuke WATANABE, Nóra ADÁNYI, Tomáš LOŠÁK, Helmut K. MAYER   	43
Soybean quality: Options for improvement of food safety and health value	
Brigitte RUGE-WEHLING, Kristin FISCHER, Steffen ROUX, Regine DIETERICH 	45
Improving yield potential, yield stability and seed quality of lupins as protein plants (LupiBreed)	
Manuel PRAMSOHLER, Giovanni PERATONER, Christian PARTL  	47
Variability of agronomic and qualitative traits of winter rye and spelt landraces from North and South Tyrol - The project CereAlp	
Clemens FLAMM, Thomas GRISSMANN, Lorenz HARTL, Maren LIVAJA  	49
Zusammenhang agronomischer Merkmale und N-Effizienz von Winterweizen bei unterschiedlicher Wasserversorgung	
Friedrich J. ZELLER 	53
Entwicklung männlich-steriler Weizenlinien mit Hilfe von <i>Aegilops kotschyi</i> -Cytoplasma und der Weizen-Roggen-Translokation 1BL-1RS	
Manuel GEYER, Volker MOHLER, Theresa ALBRECHT, Adalbert BUND, Lorenz HARTL 	59
Linkage mapping of the restorer gene <i>Rf3</i> in winter wheat and spelt wheat	
Martina TRÁVNÍČKOVÁ, Kateřina PÁNKOVÁ, František HNILIČKA 	61
Detection of new flowering time genes in wheat: Their effects within near-isogenic lines	

Thomas MIEDANER, Stefan HAFFKE, Marlen GOTTWALD, Andreas SEGGL, Silvia KOCH, Steffen ROUX, Bernd HACKAUF, Barbara KUSTERER, Franz J. FROMME, Brigitta SCHMIEDCHEN, Peer WILDE 🇩🇪	63
Wissensbasierte Nutzung der Biomasse von Hybridroggen: Vom Phänotyp zum QTL	
Kerstin FLATH, Nicole SOMMERFELDT-IMPE 🇩🇪	67
Stripe and stem rust – an increasing risk for wheat growing?	
Taťána SUMÍKOVÁ, Alena HANZALOVÁ, Pavel BARTOŠ 🇨🇪	69
Molecular analysis of resistance genes to leaf rust in winter wheat cultivars registered in the Czech Republic	
Monika GRUNDLER, Monika SEDLMEIER, Benno VOIT, Berta KILLERMANN, Ludwig NIESSEN 🇩🇪	71
Initial steps in the development of a quantitative and qualitative test method for detection of wheat bunt diseases ( <i>Tilletia</i> spp.) by means of Real-Time PCR assays	
Benno VOIT, Susanne MOSCH, Berta KILLERMANN 🇩🇪	73
Möglichkeiten zur Einschätzung der Triebkraft bei Gemüseerbsen ( <i>Pisum sativum</i> L.)	
Bettina SCHAUDY, Martin PACHNER, Johann VOLLMANN 🇩🇪	75
Ursachen und Auswirkungen von Verfärbungen der Samenschale bei Sojabohnen	
Francois PARADIS 🇫🇷	79
Optomachines: Phänotypisierungsgeräte, immer schneller, immer umfassender	

## Getreidezüchtung und Lebensmitteltechnologie – Verständnis und Missverständnis in einer Zweckgemeinschaft: Beispiele zu Erfolgen und Fehlentwicklungen

### *Cereal breeding and food technology - Understanding and misunderstanding in a partnership: examples of success and aberration*

Alfred MAR\*

\* Internationale Gesellschaft für Getreidewissenschaft und –technologie Austria (ICC Austria), Marxergasse 2, 1030 Wien, Österreich

(✉) [alfred.mar@icc.or.at](mailto:alfred.mar@icc.or.at)

**Abstract** The supply chain of cereal-based food is a multi-level complex system, from breeding, via agriculture, processing (food-technology) and food trade to the consumer. The quality of communication within the supply chain decides the quality of the final product for the consumer. The paper focuses on the communication between plant breeding and food technology. To improve the exchange of information between the two partners in the supply chain it is advisable to understand the basic characteristics of them. Plant breeding is a long-term process. Requirements on the quality of new varieties fulfill within a process over 10 years and more. On the other hand food-technology acts in high dynamic short-term processes. The reason for the extreme dynamic is the permanent force of the food market on the producers referring price, quality, innovation and conformity to the food law regulations.

Examples demonstrate successful developments by a well working communication between breeding and food processors. Other examples show aberrations and misconceptions. The development of purple wheat bread with a high anthocyanin content and antioxidative capacity is an example of a success story, whereas beta-glucan barley was a success of breeding, but had hitherto no positive market response. The question if wheat varieties rich in protein and gluten meet still the requirements of today's baking technology is endlessly discussed? The paper closes with future objectives in the co-operation along the supply chain.

**Keywords** Anthocyanin · beta glucan · *Hordeum vulgare* · protein · purple wheat · *Secale cereale* · *Triticum aestivum*

#### Einleitung

Die Versorgungskette (*supply chain*) von Lebensmitteln auf Getreidebasis ist ein mehrstufiges, komplexes System: Saatzucht, Landwirtschaft, Verarbeitung in mehreren Stufen (Lebensmitteltechnologie), Lebensmittelhandel, Konsument.

Zwischen den angeführten 5 Hauptmodulen der Versorgungskette stehen weitere Stufen („Zwischenmodule“), insbesondere der Agrarhandel, die Getreidelagerung und die jeweilige Logistik. In einem derart vielstufigen und komplexen System ist die Kommunikation von qualitativen und quantitativen Anforderungen an das Produkt, den Rohstoff und die im Zusammenhang stehende Dienstleistung die Herausforderung schlechthin. Was an den einzelnen Schnittstellen der Versorgungskette in der jeweiligen Kunden-Lieferanten-Beziehung, festgelegt in Spezifikationen, überwiegend gut funktioniert, stellt sich als „Stufen-überspannende“ Kommunikation häufig als fehleranfällig mit programmierten Missverständnissen dar.

#### Die Hauptmodule der Versorgungskette

In der vorliegenden Abhandlung soll dabei besonders die Kommunikation zwischen Saatzucht und der oft mehrstufigen Verarbeitung, hier allgemein als „Lebensmitteltechnologie“ bezeichnet, an Hand unterschiedlicher Beispiele kritisch beleuchtet werden. Getreidezüchtung und Lebensmitteltechnologie dabei als Zweckgemeinschaft zu bezeichnen, ergibt sich im Wesentlichen aus der gemeinsamen Zielverfolgung, ein Endprodukt für den Konsumenten bereitzustellen, das nicht bloß lebensmittelrechtlichen, sondern auch qualitativen, wie z.B. sensorischen Anforderungen entspricht. Dabei ist es jedoch vorteilhaft, im Sinne eines besseren Verständnisses einige wesentliche Unterschiede in den Hauptmodulen der Versorgungskette zu analysieren und darzustellen.

#### Saatzucht

Die Saatzucht verfolgt langfristige Zielsetzungen, die in mehrjährigen Zyklen in selektiven Prozessen und Vermehrungsschritten verfolgt werden. Eine Verkürzung der Verfahrensdauer erfolgt etwa durch zweifache Vermehrung pro Jahr. Eine zukünftige Methode, genetische Merkmale gezielter zu verändern, bestünde in *genetically edited organisms* (GEOs) (STALLARD 2014). Dabei werden Werkzeuge und Methoden der Gentechnik, ohne Anwendung von Fremdgenen eingesetzt. Eine möglicher Weise auch in Österreich vertretbare Methode. Dennoch bleiben aber Zielsetzungen der Saatzucht, schon wegen der Vermehrungszyklen für ausreichende Saatgutmengen langfristig.

## **Landwirtschaft**

Die Landwirtschaft und ebenso die an den Schnittstellen der Versorgungskette befindlichen Agrarhandels- und Lagerhausorganisationen agieren traditioneller Weise in Wirtschafts- bzw. Erntejahren. Mehrjährige Modelle der Pflanzenproduktion berücksichtigen Fruchtfolgen, dies besonders im Bio-Landbau. Ein wichtiger Parameter für die Landwirtschaft ist der Bruttoerlös je Hektar, der sich aus dem quantitativen Hektarertrag, dem Preis und nicht zuletzt aus den Fördermodellen ergibt. Im Wesentlichen könnte man den landwirtschaftlichen Sektor als mittelfristig, im Jahresrhythmus agierend, einstufen.

## **Lebensmitteltechnologie**

Die Verarbeitungsstufen bewegen sich überwiegend kurzfristig in hochdynamischen Prozessen. Der Grund liegt vor allem beim Lebensmittelhandel, der – sich im ständigen Preiskampf befindend – schon bei geringsten Umsatzbewegungen nach unten anlassbezogen und häufig überraschend schnell Forderungen an die Lieferanten stellt. Angesichts des österreichischen Oligopols im Lebensmittelhandel stehen die Lieferanten unter einem extremen Druck in zumindest vier Richtungen: Preisdruck, Qualitätsdruck, Druck der lebensmittelrechtlichen Bestimmungen und Innovationsdruck. Kaum eine andere Branche, die Medien ausgenommen, steht unter einem derart kurzfristigen Aktionszwang.

## **Die Kommunikation in der Versorgungskette**

Nach dieser Kurzcharakteristik der ersten drei Hauptmodule der Versorgungskette stellt sich die Frage nach den Kommunikationswegen zwischen den Hauptmodulen.

## **Saatzucht – Landwirtschaft**

Eine zweifelsfrei funktionierende Kommunikation! Die Resultate sind schlechthin eine Erfolgsstory über die letzten Jahrzehnte, wie am Beispiel Weizen zu zeigen ist. Laut Beschreibender Sortenliste (AGES 2015) waren 1960 24 Winterweizensorten zugelassen, 2015 sind es 85 – eine beeindruckende Leistung der Saatzeit! In den 1970er Jahren waren 12-13% Protein bereits hohe und für die Bäckereitechnologie zufriedenstellende Qualitäten, nach den Usancen der Börse für landwirtschaftliche Produkte, Ausgabe 2007, entsprechen 12,5% gerade den Anforderungen an Mahlweizen. Für Qualitätsweizen beträgt der geforderte Wert bereits 14%, für Premiumweizen 15%. Laut Erntebericht 2015 der Versuchsanstalt für Getreideverarbeitung (KUMMER 2015) entsprachen 34% der Erntemenge Qualitätsweizen und 20% Premiumweizen. Die Hektarerträge stiegen gleichfalls in Höhen, die in den letzten Jahrzehnten des vorigen Jahrhunderts fast nicht vorstellbar waren; im Erntejahr 2015 lag der Hektarertrag von Weichweizen bei durchschnittlich 5,9 t/ha (AMA *et al.* 2015, KUMMER 2015). Aus Deutschland werden Spitzenwerte von 9 t/ha und mehr berichtet. Auch bei Resistenzen gegenüber Pilzkrankheiten wurden zweifelsfrei wesentliche Fortschritte erzielt. Die Frage stellt sich jedoch, ob die Saatzeit gegenüber den evolutionären und durch den Klimawandel sich ändernden Anpassungsmechanismen der Krankheitserreger und Toxinbildner Schritt halten kann.

## **Landwirtschaft – Lebensmitteltechnologie**

Hier hat sich in den letzten Jahrzehnten ein deutlicher Wandel vollzogen. Während noch in den letzten Jahrzehnten des vorigen Jahrhunderts die Suche nach den besten Rohstoffqualitäten während der Getreideernte einsetzte, manchmal schon am Feld, oft aber erst in den Getreidelagern, ist mit dem Kontraktanbau auch bei Getreide zunehmend eine Vorgangsweise zu beobachten, die es bei Zuckerrüben, Gemüse für den Tiefkühlkostbereich und bei Ölfrüchten schon längere Zeit gegeben hat. Ich nenne hier als Beispiel das Kontraktssystem von Resch & Frisch, Wels, das über die börsenmäßigen Usancen hinausgehende technologische Qualitätsparameter im Kontrakt mit den Landwirten festlegt und weiter auch Sorte und Kultivierungsbedingungen vertragsmäßig regelt

(<https://www.resch-frisch.com/blog/uber-300-kluge-kopfe-sorgen-fur-genuss-mit-sicherheit/>). Gleichzeitig wurde damit aber auch eine gesicherte Herkunft des Getreides festgeschrieben, was besonders der Lebensmittelhandel in seiner Nutzung des Marketings der Regionalität aufgegriffen hat.

## **Saatzeit – Lebensmitteltechnologie**

Wir nähern uns somit dem kritischen Kernthema der Ausführungen. Wie oben beschrieben, treffen hier Vermehrungszyklusbedingte Langfristigkeit und dynamische Kurzfristigkeit als Grundlagen des Handelns aufeinander. Wünsche der Lebensmitteltechnologien werden von den Saatzeitern aufgegriffen, verzeichnen nach etlichen Jahren Erfolge im Sinne der geforderten Eigenschaften, sind für die Verarbeitungsbetriebe aber möglicherweise schon überholt und nicht mehr aktuell. Umgekehrt erwachsen besonders bei der wissenschaftlich betriebenen Saatzeitung aus der Selektion Ergebnisse, die interessant erscheinen, von den Verarbeitungsbetrieben aber mangels Interesse des Lebensmittelhandels nicht aufgegriffen werden. In der Außenwirkung mögen diese Gegebenheiten als Missverständnisse einer Zweckgemeinschaft interpretiert werden. Sie sind jedoch systemimmanent. Dennoch entspringen auch die in diesem Zusammenhang nicht von Erfolg gekrönten Aktionen stets dem Ziel, das jeweils qualitativ optimierte Produkt für den Konsumenten bereit zu stellen.

## **Beispiele für Erfolge und mögliche Fehlentwicklungen**

In weitere Folge sollen Beispiele angeführt werden, die Erfolge und Fehlentwicklungen aufzeigen und möglicherweise auf Missverständnisse in der Kommunikation zwischen Saatzeitern und Lebensmitteltechnologien hinweisen:

## **Purpurweizen**

Eine Erfolgsstory, an der die Saatbau-Erntegut GmbH, Leonding, die Universität für Bodenkultur (BOKU), sowie die Fa. Backaldrin, Asten, Anteil haben. Dass derzeit viele, auch namhafte Bäckereien „PurPur-Brot“ verkaufen, war aber letztendlich das Ergebnis einer vorbildlichen Zusammenarbeit zwischen Saatzeitung und Lebensmitteltechnologie. Ende der 1990er Jahre wurden von der Saatbau Linz Weizensorten mit violetter Färbung getestet. An der BOKU wurden in der Folge die wissenschaftlichen Ergebnisse erzielt, die Grundlage der weiteren Produktentwicklung durch die Fa. Backaldrin waren.

Die Pflanzenzüchtung hatte das Ziel, Sorten aus Kreuzungen zu selektieren, die einen möglichst hohen Anthocyangehalt aufwiesen. Es zeigte sich, dass blaue Anthocyane überwiegend in der Aleuronschicht, rot-violette Anthocyane jedoch hauptsächlich in der Samenschale lokalisiert sind (BARON *et al.* 2012, SYED JAAFAR *et al.* 2013). Am Institut für Lebensmitteltechnologie wurde in Kooperation mit der HTL für Lebensmitteltechnologie, Wels, in Mahlversuchen und darauf folgenden Analysen die Verteilung der Farbstoffe im Korn bestätigt und daraus der Schluss gezogen, dass die gewünschten Effekte der Anthocyan-Anreicherung in Getreideprodukten aus Purpurweizen nur mit Vollkorntechnologie erreicht werden kann.

Was ist nun die Konsequenz aus der Anwendung von Vollkorntechnologie in Brot bzw. Backzutaten für diese Brote? Einerseits verlangt Vollkorntechnologie einen besonders intensiven Reinigungsprozess in der Mühle, da ja die Teile, die die stärksten Kontaminationen mit Umweltmissionen, aber auch mit Pilztoxinen und generell Mikroorganismen aufweisen, nämlich Frucht- und Samenschale, mit Ausnahme geringster Reinigungsverluste vermahlen werden. Betrachtet man dabei die in technologisch auf dem letzten Stand befindlichen Mühlenbetriebe und die dort angewendeten optischen Sortierverfahren (z.B. Sortex, Fa. Bühler, Schweiz) kommt bei der Detektion von pilzbefallenen Körnern gerade bei dunkel gefärbtem Purpurweizen auf die Betriebe eine besondere Herausforderung zu. Eine weitere Konsequenz aus der Vollkorntechnologie ist der unbedingt erforderliche Aufschluss

von allenfalls verwendeten ganzen Körnern bzw. Grobschrotten. Erst durch geeignete Verfahren, wie Dämpfung, Kochen, allenfalls Kochextrusion werden die gewünschten sensorischen Eigenschaften im Brot und die Voraussetzung für einen enzymatischen Aufschluss im Verdauungstrakt geschaffen.

Es bleibt ein Wermutstropfen im Erfolgsprojekt Purpurweizen: Anthocyane mit ihrer postulierten antioxidativen Wirkung im Zellstoffwechsel fanden bislang keine Aufnahme in die zugelassenen gesundheitsbezogenen Aussagen laut Anhang II der Health Claims Verordnung (Verordnung EU Nr. 1924/2006).

### **Beta-Glucane in Gerste und Hafer**

Zunächst kann man in diesem Fall sofort mit gesundheitsbezogenen Angaben (Anhang II der Health Claims Verordnung) aufwarten: Unter bestimmten Mengenvoraussetzungen dürfen Beta-Glucane aus Gerste und Hafer als „den Cholesterinspiegel normalisierend“ und „nach Mahlzeiten den Blutzuckerspiegel nicht so stark ansteigend“ ausgelobt werden. Vergeblich sucht man nach Auslobungen, die die pharmazeutische Industrie für Beta-Glucan-Kapseln verwendet, z.B. „das Immunsystem stärkend“ oder „die Darmflora unterstützend“. Für Lebensmittel sind diese Angaben nicht zulässig.

Wie wenig gesundheitsbezogene Aussagen und Markterfolge im Zusammenhang stehen, erkennt man an der vergeblichen Suche nach erfolgreichen Produkten, die Anreicherungen mit Beta-Glucanen aus Gerste oder Hafer aufweisen. Dabei wurden an der BOKU schon Anfang unseres Jahrhunderts wichtige wissenschaftliche Grundlagen erarbeitet (KINNER *et al.* 2011, SIEBENHANDL-EHN *et al.* 2011). Den Pflanzzüchtern gelang es, Gerstensorten mit einem erhöhten Beta-Glucan-Gehalt zu selektieren. Als weiteres Merkmal wiesen diese Gerstensorten eine leichtere Ablösung der Spelze vom Korn auf, wurden somit als „Nacktgersten“ eingestuft. Die ICC-Austria widmete diesen Forschungsergebnissen die Jahrestagung 2010 „Nacktgerste – wiederentdeckte Quelle für funktionelle Lebensmittel“ (ICC AUSTRIA 2010). Weitere Diplomarbeiten an der HTL für Lebensmitteltechnologie, Wels, in Zusammenarbeit mit der Strobl-Naturmühle, Linz-Ebelsberg, zeigten die Verteilung der Beta-Glucane in den Gersten auf. Im Wesentlichen konnte nach schichtweisen Schälversuchen die Aussage getroffen werden, dass die höchste Beta-Glucan-Konzentration im Bereich Samenschale (Testa) und Aleuronschicht mit bis zu 14% liegt. Hingegen wiesen Fraktionen aus der Fruchtschale (Pericarp) und dem Mehlkörper (Endosperm) mit nur 3% deutlich geringere Gehalte auf. Die Vollkornmahlung wies etwa 7% an Beta-Glucanen auf (SCHWARZ & ZIEGLER 2013).

So bleibt hier nur der Appell an die Institutionen des Landes, die um Ernährung und Prävention bemüht sind, sich der Möglichkeit der Anreicherung von z.B. Backerzeugnissen mit Beta-Glucanen anzunehmen.

### **Protein versus Gluten**

Die erfolgreiche Steigerung des Proteingehaltes von Weizen über die letzten Jahrzehnte wurde bereits oben erwähnt. In den Börsensancen werden bei der Differenzierung zwischen Mahl-, Qualitäts- und Premiumweizen neben dem Rohproteingehalt weitere Merkmale und Kennzahlen herangezogen, nämlich Besatz, Hektolitergewicht, Fallzahl und Backqualität, letztere nach der AGES Klassifizierung in neun Qualitätsgruppen (AGES 2015).

Aus Sicht der Bäckereitechnologen seien einige kritische Anmerkungen getroffen: Der Glutengehalt, ausgedrückt als % Feuchtkleber nach der Glutomatic-Methode, ist die wesentliche Kennzahl gegenüber dem weniger ausschlaggebenden Proteinwert. Der Bäckereitechnologe denkt in der Dimension des gerüstbildenden Glutens, das bei Weizenbackwaren qualitätsbestimmend ist hinsichtlich Teigbeschaffenheit, Gashaltevermögen, Backvolumen und Porenbild. Das lösliche „Nicht-Gluten-Protein“ hingegen spielt nur bei der Wasserbindung im Teig eine Rolle. Dazu ein Vergleich

der Durchschnittswerte der Ernte 2014 und 2015 nach dem Erntebericht der Versuchsanstalt für Getreideverarbeitung (KUMMER 2015): Der Proteingehalt war mit 13,8% in beiden Jahren gleich, hingegen fiel der Feuchtklebergehalt von 31,2 auf 30,4%. Noch gravierender zeigen sich die Unterschiede beim Vergleich der unterschiedlichen Erntegebiete Pannonikum gegenüber Alpenvorland aus dem Erntejahr 2015: Während der Unterschied beim Rohprotein nur 0,4% betrug, fielen die Feuchtkleberwerte im Alpenvorland um 2,8%, das Backvolumen gar von 724 auf 670 ml/100g.

Nun könnte man von der Annahme ausgehen, dass das Ziel der Bäckereitechnologen lautet: möglichst hohe Feuchtklebergehalte. Aber auch das wäre schon wieder ein Missverständnis, denn neben der Feuchtklebermenge tragen die Glutenqualität, der Stärkeanteil und die Stärkequalität sowie die Aktivität von Amylasen und Proteasen zur Backqualität bei (MÜNZING 2013). Dabei wurde die Rolle der Pentosane, der Arabinoxylane, und der Pentosanasen mangels bestehender Standard-Kennzahlen noch gar nicht berücksichtigt.

Somit bliebe als finale Qualitätsbeurteilung eines Weizens die Kennzahl, die das multifunktionale System insgesamt berücksichtigt, nämlich die Backqualitätsgruppe nach der AGES Klassifizierung, die neben dem Backvolumen auch qualitative Teig- und Gebäckmerkmale einschließt. Doch muss auch hier eine kritische Anmerkung getroffen werden: Gemäß ICC-Standard Nr. 131 wird der in Deutschland entwickelte Rapid-Mix-Test (RMT) mit einem Hochgeschwindigkeitsmischer (Stephan-Mixer) durchgeführt. Dieses Intensivknetverfahren ist jedoch in der Bäckereipraxis in Österreich nicht anzutreffen. Die am häufigsten verwendeten Knetmaschinen sind die nach der Bauart des Knetwerkzeuges benannten Spiralkneter, die besonders bei langsamen Knetgeschwindigkeiten völlig andere Teig- und Gebäckqualitäten ergeben. Die Frage nach einem „Österreichischen Praxisbackversuch“ stellt sich hier daher dringend, auch im Zusammenhang mit der Zulassung neuer Weizensorten!

Letztendlich sei zur Frage des möglichst hohen Glutengehaltes als Züchtungsziel die kritische Frage gestellt, ob wir nicht bereits übertrieben haben und die Glutengehalte schon zu hoch sind? Dazu sei angemerkt, dass sich die Bäckereitechnologie in den letzten Jahrzehnten drastisch veränderte! War in den letzten Jahrzehnten des vorigen Jahrhunderts die kurze Teigführung mit möglichst raschem Durchlauf der Teige durch die Anlagen der Grund für den Wunsch nach möglichst hohen Feuchtkleberwerten, geht der Trend zumindest im letzten Jahrzehnt in Richtung langer Teigführung, die wesentlich mehr Geschmack und Frische des Gebäcks ergibt, wofür aber auch nicht mehr so hohe Glutenwerte erforderlich sind. Dabei denke ich an Mehle für Baguettes oder Ciabatta, die auch in den Traditionsländern Frankreich und Italien Feuchtklebergehalte von nur 28-30% oder weniger aufweisen.

Fragt man letztendlich die Ernährungswissenschaftler zum Thema Gluten, weisen diese natürlich sofort auf Zöliakie, Weizenallergien oder generell unspezifische Weizenunverträglichkeiten hin, was das Züchtungsziel nach möglichst hohen Glutenwerten nochmals relativiert. Auf das Thema der Weizenunverträglichkeiten, die durch Enzyminhibitoren induziert werden könnten, wird in Arbeiten der HTL für Lebensmitteltechnologie, Wels, noch näher eingegangen werden (WENGER-OEHN & KAPPLMÜLLER 2015, 2016).

### **Enzymaktivität von Roggen**

Möglicher Weise lag auch bei diesem Thema ein Missverständnis zwischen Saatzüchtern und Lebensmitteltechnologern vor. Jahrzehntelang war das große Schreckgespenst der Bäcker der Auswuchsroggen, ein hoch enzymaktiver Roggen. Ohne Zweifel kann es niemals Ziel sein, Auswuchs als Ziel zu deklarieren, das würde ja auch gegen alle Standards bei der Besatzbeurteilung verstoßen. Aber Roggen, die kaum noch Enzymaktivitäten aufweisen, wie es in den Ernten 2014 und auch 2015 der Fall war (KUMMER 2015),

können auch niemals ein Qualitätsziel sein, da sie zu trockenbackenden Roggen- und Roggenmischbrot mit geringer Frischhaltung und leerem Geschmack führen. Der Bäcker braucht zur Herstellung von traditionellem Roggen- und Roggenmischbrot die Alpha-Amylase und genauso braucht er aus Gründen der Brotqualität den Sauerteig, der zwar einerseits die Enzyme wieder hemmt, andererseits aber für Geschmack und Frischhaltung ein essentieller Bestandteil ist.

### Zusammenfassung - Ausblick

Saatzüchter und Lebensmitteltechnologien sind nicht bloß eine „Zweckgemeinschaft“, sondern sie stellen eine qualitätsbestimmende Achse in der Versorgungskette für Getreideprodukte dar. Die wissenschaftlich basierte Kommunikation, z.B. im Rahmen von wissenschaftlichen Tagungen oder die noch intensivere Zusammenarbeit in Projekten, ist ein wesentlicher Ansatz zur Erzielung gemeinsamer Erfolge in Form von hochqualitativen Produkten für den Konsumenten. Dabei ist die Landwirtschaft als wichtiger Partner mit einzubinden.

Aus den kritischen Anmerkungen ergeben sich zukünftig gemeinsam festzulegende Ziele, wie z.B. Sorten für bestimmte technologische Eigenschaften, wie Weizensorten für lange Teigführungen oder Tiefkühlteige, Resistenzen gegen Pilze, da diese sicher zunehmend durch den Klimawandel begünstigt werden, sowie Sorten mit Gluten, der gewisse allergene Eigenschaften bzw. Enzyminhibitoren nicht aufweist und somit ernährungswissenschaftlichen Zielen entspricht.

### Literatur

AGES (2015) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2015, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2015. [[http://www.baes.gv.at/fileadmin/user\\_upload/BSL15\\_gesamt\\_korr.pdf](http://www.baes.gv.at/fileadmin/user_upload/BSL15_gesamt_korr.pdf); besucht am 9/2/2016]

AMA, LK, VG, WKO (2015) Österreichische Weichweizen-Ernte 2015. Agrarmarkt Austria (AMA), Landwirtschaftskammer Österreich (LK), Versuchsanstalt für Getreideverarbeitung (VG), Bundesgremium des Agrarhandels (WKO). [[www.boersewien.at](http://www.boersewien.at); besucht am 9/2/2016]

BARON J, SIEBENHANDL-EHN S, SYED JAAFAR SNB, BÖHMDORFER S, ROSENAU T, GRAUSGRUBER H (2012) Purpurweizen - geht's noch bunter? Steigerung des Anthocyanin-Gehaltes in Blaukorn-xPurpurweizen Kreuzungen. 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, pp 87-90. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Österreich.

ICC AUSTRIA (2010) Nacktgerste – Wiederentdeckte Quelle für funktionelle Lebensmittel. Jahrestagung, 30. Sept., Internationale Gesellschaft für Getreidewissenschaft und -technologie - Austria, Wien.

KINNER M, NITSCHKO S, SOMMEREGGER J, PETRASCH A, LINSBERGER-MARTIN G, GRAUSGRUBER H, BERGHOFER E, SIEBENHANDL-EHN S (2011) Naked barley - Optimized recipe for pure barley bread with sufficient beta-glucan according to the EFSA health claims. *J Cereal Sci* 53: 225-230. DOI: 10.1016/j.jcs.2011.01.001

KUMMER C (2015) Qualität der österreichischen Brotgetreideernte 2015. Versuchsanstalt für Getreideverarbeitung, Wien. [[http://www.backwelt.de/files/f2m-media/images/Specials/Ernteberichte/Ernte\\_2015\\_b%2Bb.pdf](http://www.backwelt.de/files/f2m-media/images/Specials/Ernteberichte/Ernte_2015_b%2Bb.pdf); besucht am 9/2/2016]

MÜNZING K (2013) Qualitätsparameter für Brotgetreide – Sind die Bestimmungsmethoden noch zeitgemäß? DBV-Ackerbautagung „Parameter zur Bestimmung der Qualität von Brotgetreide“, 20.-21. Juni, Berlin. [<http://media.repro-mayr.de/14/573214.pdf>; besucht 9/2/2016]

SCHWARZ R, ZIEGLER R (2013) Enzymatische Beta-Glucanbestimmung in Beta-Glucanergeste. Diplomarbeit, HTL für Lebensmitteltechnologie, Wels.

SIEBENHANDL-EHN S, KINNER M, LEOPOLD LF, POPPERNITSCH MB, PRÜCKLER M, WURBS P, POISINGER S, KALAS E, BERGHOFER E, GRAUSGRUBER H (2011) Hullless barley – A rediscovered source for functional foods. Phytochemical profile and soluble dietary fibre content in naked barley varieties and their antioxidant properties. In: Rasooli I (ed), *Phytochemicals - Bioactivities and impact on health*, pp 269-294. InTech Europe, Rijeka, Croatia. DOI: 10.5772/26952

STALLARD B (2014) Introducing genetically edited crops: the alternative to GMOs. *Nature World News*, 13<sup>th</sup> Aug. [<http://www.natureworldnews.com/articles/8536/20140813/introducing-genetically-edited-crops-alternative-gmos.htm>; besucht am 9/2/2016]

SYED JAAFAR SN, BARON J, SIEBENHANDL-EHN S, ROSENAU T, BÖHMDORFER S, GRAUSGRUBER H (2013) Increased anthocyanin content in purple pericarp x blue aleurone wheat crosses. *Plant Breeding* 132: 546-552. DOI: 10.1111/pbr.12090

WENGER-OEHN G, KAPPLMÜLLER J (2015) Vorstellung einer neuen Methodik zur Bestimmung des ATI-Gehaltes (Amylase-Trypsin-Inhibitoren) in ausgewählten Mehlen. 1. D-A-CH-Tagung für angewandte Getreidewissenschaften, AGF Detmold, ICC-Austria & ICC-Schweiz, 1.-2. Okt., Wien.

WENGER-OEHN G, KAPPLMÜLLER J (2016) Introducing a new method for the determination of the ATI (amylase-trypsin-inhibitors) content in wheat flour. Tagungsband 66. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2015, 23.-25. November, Raumberg-Gumpenstein, p 11. Saatgut Austria, St. Pölten.

## Nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel - „Health Claims Verordnung“

### *Nutrition and health claims made on foods*

Clemens ANWANDER\*

\* Bundesgremium des Lebensmittelhandels, Wirtschaftskammer Österreich, Wiedner Hauptstraße 63, 1045 Wien, Österreich

(✉) lebensmittelhandel@wko.at

**Abstract** Nutrition and health claims may be used in the labelling, presentation and advertising of foods placed on the market in the Community only if they comply with the provisions of the ‘Health Claims Regulation’ 1924/2006.

**Keywords** EU regulation · health · nutritional value

#### Einleitung

Aufgrund der seit 1. Juli 2007 geltenden Health Claims Verordnung 1924/2006 dürfen nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben bei der Kennzeichnung und Aufmachung von Lebensmitteln, die in der Gemeinschaft in Verkehr gebracht werden, bzw. bei der Werbung hierfür nur verwendet werden, wenn sie der Verordnung entsprechen. Sie gilt für nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben, die in kommerziellen Mitteilungen bei der Kennzeichnung und Aufmachung von oder bei der Werbung für Lebensmittel gemacht werden, die als solche an den Endverbraucher abgegeben werden sollen.

Ein Health Claim ist eine gesundheitsbezogene Aussage oder Darstellung, die erklärt oder suggeriert, dass ein Inhaltsstoff oder Lebensmittel eine besondere Auswirkung auf die Gesundheit hat (z.B. Vitamin C unterstützt den Zellschutz, Kalzium ist gut für die Knochen, ...).

Unter „nährwertbezogene Angabe“ versteht man jede Angabe, mit der erklärt, suggeriert oder auch nur mittelbar zum Ausdruck gebracht wird, dass ein Lebensmittel besondere positive Nährwertigenschaften besitzt, und zwar aufgrund der Energie (des Brennwertes), die es liefert, in vermindertem oder erhöhtem Maße liefert oder nicht liefert, und/oder der Nährstoffe oder anderen Substanzen, die es enthält, in verminderter oder erhöhter Menge enthält oder nicht enthält. Eine „gesundheitsbezogene Angabe“ ist jede Angabe, mit der erklärt, suggeriert oder auch nur mittelbar zum Ausdruck gebracht wird, dass ein Zusammenhang zwischen einer Lebensmittelkategorie, einem Lebensmittel oder einem seiner Bestandteile einerseits und der Gesundheit andererseits besteht.

Bereits autorisierte Claims können von jedem Lebensmittelunternehmer unter den für sie geltenden Bedingungen verwendet werden, wobei die Verordnung (EU) 432/2012 eine Liste mit zulässigen gesundheitsbezogenen Angaben zu Lebensmitteln mit konkreten Verwendungsbedingungen festlegt. Außerdem gibt es die Datenbank EU Register on nutrition and health claims, welche alle jemals eingereichten Claims enthält (inklusive deren Status). Nicht zugelassene Claims dürfen nicht verwendet werden.

Will man selbst einen Claim einreichen kann man dies beim Bundesministerium für Gesundheit (Abteilung II/B/13 - Lebensmittelrecht, -sicherheit und -qualität) tun. Allerdings muss:

- die angegebene Wirkung allgemein anerkannt wissenschaftlich nachgewiesen sein;
- die genannte Substanz im Produkt in ausreichender Menge vorhanden (oder nicht vorhanden) sein um die behauptete Wirkung zu erzielen;
- die genannte Substanz in einer Form vorliegen, die für den Körper verfügbar ist;
- die übliche Verzehrmenge des Produkts geeignet sein, die angegebene Wirkung zu erzielen;
- die Angabe sich auf das verzehrfertige Lebensmittel beziehen.

#### Literatur

Verordnung (EG) Nr. 1924/2006 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 20. Dezember 2006 über nährwert- und gesundheitsbezogene Angaben über Lebensmittel. Amtsblatt der Europäischen Union, L 12. [<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2007:012:0003:0018:DE:PDF>; besucht am 14/12/2015]

Verordnung (EU) Nr. 432/2012 der Kommission vom 16. Mai 2012 zur Festlegung einer Liste zulässiger anderer gesundheitsbezogener Angaben über Lebensmittel als Angaben über die Reduzierung eines Krankheitsrisikos sowie die Entwicklung und die Gesundheit von Kindern. Amtsblatt der Europäischen Union, L 136. [<http://eur-lex.europa.eu/LexUriServ/LexUriServ.do?uri=OJ:L:2012:136:0001:0040:DE:PDF>; besucht am 14/12/2015]



## Requirements of consumers, food trade and processors of agricultural products – Dreams and reality

Karl FISCHER\*

---

\* Saatbau Linz, Schirmerstraße 19, 4060 Leonding, Austria

(✉) Karl.Fischer@saatbau.com

---

**Abstract** Over the years consumer requirements have changed fundamentally. While in former times it was sufficient to have enough to eat, we also focus on satisfaction of conscience nowadays. Recently special sensibilities of consumers are served more and more by 'free from' products or ancient cereals. For the suppliers of agricultural commodities it becomes increasingly difficult to reach their customers and to inform them with details and contents of their work. This development concerns consumers as well as purchasing managers and also applies increasingly to engineers in the food processing sector. The market for bread and bakery products has declined slightly and amounts to 1 billion Euro in Austria. Only 19% of sales are delivered directly from bakers and this percentage continues to decline. 81% of the bread is sold via the food retail market which is dominated by frozen dough products which dominates also the gastronomy. According to current estimates, about 75% of the domestic bread consumption refers to frozen dough products. However, requirements of these technologies are not yet part of the VCU test. There is

a lot of catching up to do in this matter. The bakers instead use increasingly opportunities opened by the high-tech industry as well as by producers of baking additives. Lower qualities of raw materials are compensated by vital wheat gluten. Moreover, enzymes are used to improve poor wheat qualities, without a need of declaration. Therefore, the market for high quality wheat declines, although the price for bakers' flour declined by half in the last 20 years since Austria joined the EU. On the other hand there are successful examples where companies are aware of the quality and processing benefits of specific varieties, e.g. the malting and brewing industry, pasta producers or processors of soymilk, tofu or soy flour. For small oil mills this already works for a longer period. They produce special vegetable oils by using selected plant varieties with special fatty acid pattern.

**Keywords** Austria · bread · frozen dough · market · soybean · wheat



## Agricultural raw materials for the starch processing industries: Requirements on plant breeding from the processors' point of view

Werner ZUSER\*

\* Head Raw Material Procurement Division Starch, AGRANA Stärke GmbH, Conrathstr. 7, 3950 Gmünd, Austria

(✉) [werner.zuser@agrana.com](mailto:werner.zuser@agrana.com)

**Abstract** Starch is the glucose (elementary sugar) reserve of plants formed by photosynthesis. As a natural product that is gained from the plant through complex processing, the quality of the agricultural raw material has a direct impact on the quality of the final starch product. Therefore, plant breeding plays an essential role in the performance of the starch industry. The main raw materials for AGRANA's starch segment are corn (*Zea mays* L.), wheat (*Triticum aestivum* L.) and potatoes (*Solanum tuberosum* L.). Out of them a wide range of starch and starch based products for the food processing industry and for technical applications, and environmentally friendly fuel bioethanol are processed.

In wet corn starch milling the size of the kernel plays a very important role. Larger kernels make the separation of starch from gluten and the germ in the facility more efficient. Minimum AGRANA's kernel size requirement for dent corn is 45% of kernels >8 mm and for flint corn 34%. Resistance to *Fusarium* infection of the corn cob in various climate conditions is very important to produce safe food and feed. Good dry down effect with gaining the black layer in short period of time is also a requirement. A 'stay green effect' until harvest makes the plant more resistant to environmental stress. Genetically the corn plant has to become more adapted to drought and more water efficient. For waxy corn it is of interest to breed more early varieties like FAO 300 with higher yield potential.

Breeding activities in wheat have to focus on the development of varieties that are more suitable for starch production, *i.e.* having higher starch and higher protein content. Hence, genotypes which show to some extent a trade-off the negative correlation between the two traits are required. The protein has to be of baking quality with higher water extractable pentosans. Higher amount of A-quality starch is necessary for producing high valuable starches for industrial use. For bioethanol production a high starch yield potential but also the protein content is of interest. Varieties have to be more resistant to *Fusarium* head blight and the stem of the wheat plant has to stay in good condition until harvest.

With respect to potato, breeding has to focus on an increase of the starch content of the tuber to 19-22% and an increase of the yield potential to 45-60 t/ha. The potato varieties have to become more adapted to drought, higher temperatures and intense UV-radiation. Susceptibility to late blight makes the potato nowadays cost intensive crop. To ensure high yields, farmers have to treat the crop multiple times with fungicides which increase production costs. Another important disease of potato is *Alternaria solani*. To increase farmers' gains more resistant varieties with high suitability for storage are required.

**Keywords** AGRANA · bioethanol · corn · potato · *Solanum tuberosum* · *Triticum aestivum* · wheat · *Zea mays*



## Introducing a new method for the determination of the ATI (amylase-trypsin-inhibitors) content in wheat flour

Gisela WENGER-OEHN\*, Johann KAPPELMÜLLER\*

\* Higher Secondary Technical College for Food Technology and Biotechnology, Carl Blum-Str. 4, 4600 Wels, Austria

(✉) G.Wenger@htlmt.at

**Abstract** Amylase-trypsin-inhibitors (ATI) are characterized as the amount of enzyme-blocking proteins. In cereals, they act as natural defense mechanism against harmful microorganisms or pests. The inhibitors are blocking the starch-hydrolyzing enzyme amylase and the protein-hydrolyzing enzyme trypsin and consequently impair the digestion of the pest. It is hypothesized that by breeding of varieties tolerant against pests the content of ATI in cereals was unintentionally increased. Medical studies with ATI-proteins (CM3/0.19) isolated from wheat (*Triticum aestivum* L.) have shown that these inhibitors can lead to an immune defense response in the intestines. Furthermore, ATI-proteins are suspected to cause serious wheat allergies, which are often misdiagnosed as celiac disease.

An analytic determination of ATI in cereal grains und flour is the basis for dietary recommendations or strategies to reduce the content of inhibitors. An analytical method for the determination in ground grains based on size, structure and effectiveness of these inhibitors has been developed. This method is divided into sample purification and preparation, and the determination of the enzyme activity. To purify the wanted protein fraction from the complex starch matrix, a suitable sample preparation has been developed and the efficiency of the method was checked by gel electrophoresis. In the first step, the protein fraction is dissolved in a diluted sodium chloride solution and separated from the remaining starch by centrifugation. The supernatant is mixed with a neutral buffer und prepared for the determination of the enzyme activity. For the quantification of the ATI content in the purified samples the activity of added trypsin is determined by the artificial substrate N $\alpha$ -benzoyl-L-arginine 4-nitroanilide hydrochloride (L-BAPA). The trypsin cuts down this artificial substrate into an amino acid (N $\alpha$ -benzoyl-L-arginine) and the chromogenic reporter (4-nitroaniline). This aniline form has a higher extinction coefficient than L-BAPA. To measure the trypsin activity, the

velocity of releasing the chromogenic aniline form can be determined photometrically at 405 nm.

The ATI proteins are widely competitive inhibitors. A competitive inhibitor binds to the active side of the enzyme and prevents the substrate from binding to the enzyme. When there are more ATI inhibitors in the sample, it is more likely that they bind to the active side of the enzyme. As a consequence, the splitting of the artificial substrate is decelerated, which results in a lower reaction velocity than in the reference sample without inhibitors. To be successful in the determination, certain proportions between enzyme, substrate and inhibitor plus the necessary conditions have to be provided. The progress of the reaction is monitored through measuring the extinction until the equilibrium is reached. The velocity of splitting decreases as the reaction is proceeding. At the beginning, the velocity of splitting  $v_0$  in a sample is read as slope  $k$  of a curve fitted directly to the data and can be compared to the reaction without inhibitors. With this new method it is explicitly possible to identify wheat varieties and cereals with a high or low content of ATI.

**Keywords** Allergy · cereal · enzyme · nutrition · photometry · *Triticum aestivum* · wheat

### Further reading

ITO K (2015) Grain and legume allergy. *Chem Immunol Allergy* 101: 145-151. DOI: 10.1159/000375468

MAKHARIA A, CATASSI C, MAKHARIA GK (2015) The overlap between irritable bowel syndrome and non-celiac gluten sensitivity: A clinical dilemma. *Nutrients* 7: 10417-10426. DOI: 10.3390/nu7125541

SCHUPPAN D, ZEVALLOS V (2015) Wheat amylase trypsin inhibitors as nutritional activators of innate immunity. *Digestive Diseases* 33: 260-263. DOI: 10.1159/000371476

ZOPF Y, DIETERICH W (2015) Nicht-Zöliakie-Nicht-Weizenallergie-Weizensensitivität. *Dtsch med Wochenschr* 140: 1683-1687. DOI: 10.1055/s-0041-106311



## Differentiation of spelt wheat and soft wheat

Ilka HAASE\*, Torsten BRENDEL\*, Jennifer ELSNER\*, Rainer SCHUBBERT\*

\* Eurofins Genomics, Anzinger Str. 7a, 85560 Ebersberg, Germany

(✉) [ilkahaase@eurofins.com](mailto:ilkahaase@eurofins.com)

**Abstract** Spelt wheat products are considered as high value products by the consumers and consequently they are willing to pay a higher price. The higher price of spelt wheat products compared to soft wheat products is caused by *e.g.* lower cultivated areas, lower yields and an additional processing step (dehulling, *i.e.* removal of the husks). According to German legislation, spelt wheat products are expected to contain a spelt wheat content of at least 90 %. The addition of soft wheat below 10% is accepted in order to improve the baking quality.

The differentiation of spelt wheat (*Triticum aestivum* subsp. *spelta* (L.) Thell.) and soft wheat (*T. aestivum* subsp. *aestivum* L.) by analytical methods is challenging due to their close relationship and the resulting similar chemical composition. Eurofins Genomics has therefore developed a DNA-based method based on a published PCR-RFLP (restriction fragment length polymorphism) method. The developed PCR-FLA (fragment length analysis) method allows the qualitative as well as quantitative analysis of grain (flour) products for spelt and soft wheat. For the method validation, over 200 spelt wheat varieties as well as over 200 soft wheat varieties were used. Some spelt wheat varieties showed the fragment length of soft wheat and result in a false-positive soft wheat result in this assay. This atypical sequence length is probably caused by crossing soft wheat varieties with spelt wheat varieties during spelt wheat

breeding. In order to improve the reliability of the method, an additional DNA-based method was introduced which uses a SNP (single nucleotide polymorphism) on the *Q*-locus. The SNP can be detected either by sequencing or KASP®. All analysed spelt wheat and soft wheat varieties showed the expected SNP result (no atypical spelt wheat and soft wheat varieties). The combination of both methods enables a reliable identification and quantification of soft wheat in spelt wheat products without the possibility of false-positive results. The reference list of spelt wheat and soft wheat varieties is continuously expanded.

**Keywords** Adulteration · DNA based analysis · food authenticity · *Triticum aestivum* · *Triticum spelta*

### Further reading

BMEL (2005) Leitsätze des Deutschen Lebensmittelbuchs für Brot und Kleingebäck vom 19. 10. 1993, zuletzt geändert am 19. 9. 2005. Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft, Berlin. [<http://www.bmel.de/SharedDocs/Downloads/Ernaehrung/Lebensmittelbuch/LeitsaetzeBrot.html>; accessed 7 Mar 2016]

MAYER F, HAASE I, GRAUBNER A, HEISING F, PASCHKE-KRATZIN A, FISCHER M (2012) Use of polymorphisms in the  $\gamma$ -gliadin gene of spelt and wheat as a tool for authenticity control. *J Agric Food Chem* 60: 1350-1357. DOI: 10.1021/jf203945d

HAASE H, MAYER F, FISCHER M (2013) Dinkel – Der kleine große Weizenbruder. *Deutsche Lebensmittelrundschau* 109: 410-414

ASAKURA N, MORI N, NAKAMURA C, OHTSUKA I (2009) Genotyping of the *Q* locus in wheat by a simple PCR-RFLP method. *Genes Genet Syst* 84: 233-237. DOI: 10.1266/ggs.84.233



## Kolbenfäule bei Körnermais: Mit weniger anfälligen Sorten zu verbesserter Rohstoffqualität

### *Ear rot by fusariosis in maize: Less susceptible varieties for improved raw material quality*

Klemens MECHTLER\*, Hans FELDER\*, Elisabeth REITER\*, Sabrina KUCHLING\*,  
Marc LEMMENS<sup>§</sup>

\* Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien, Österreich

<sup>§</sup> Department IFA-Tulln, Universität für Bodenkultur Wien, Konrad-Lorenz-Straße 20, 3430 Tulln, Österreich

(✉) klemens.mechtler@ages.at

**Abstract** Maize ear rot caused by fusariosis is known to be influenced by environmental conditions, soil management, crop rotation and genotype. An adapted assessment method for susceptibility of varieties to ear rot has been developed based on data from Austrian official VCU trials including both visible fungal attack on the ear surface after natural and artificial infection and contents of deoxynivalenol, zearalenone and fumonisins. A method was established to calculate from these multivariate data a single score on a 1-9 scale for ear rot susceptibility for each variety. Most varieties are still assessed as medium susceptible. However, their portion could be lowered as the new assessment method turns out to produce more differentiating scores for the varieties. In 2014, a year with high infection pressure for ear rot and mycotoxin contamination in maize, the group of varieties with a score of 3 for ear rot susceptibility contained only about a quarter of the deoxynivalenol concentration than varieties with a score of 7. As a result from the multiple assessment highly susceptible candidate varieties are excluded from registration.

**Keywords** Cob rot · deoxynivalenol · fumonisin · *Fusarium* · *Zea mays*

#### Einleitung

In Österreich beträgt der Körnermaisanteil an der Gesamtgetreideernte im mehrjährigen Durchschnitt etwa 42%. Der Inlandsbedarf für Körnermais liegt bei 2,3 Mio t und ergibt sich laut Versorgungsbilanzen für Getreide und Körnermais 2009-2013 aus den Verwertungsrichtungen Futtermittel (54,9%), Industrielle Verwertung (34,1%), Nahrung (7,7%) und Saatgut (0,4%) (STATISTIK AUSTRIA 2015).

Ein wesentliches Qualitätsrisiko geht bei Körnermais vom Befall mit mykotoxinbildenden *Fusarium*-Pilzen aus. *Fusarium*-Mykotoxine stellen ein Gesundheitsrisiko für Mensch und Tier dar (LOGRIECO *et al.* 2002, DORN *et al.* 2009). Bei der industriellen Nutzung kommt es im Zuge der Maisstärkegewinnung und -verwertung zu einer Konzentration der Mykotoxine in den Nebenprodukten. Für jede Art der Maisverwertung werden daher nicht oder nur minder belastete Rohstoffpartien gefordert. In der EU gelten für Lebensmittel Höchstgehalte gemäß VO (EG) 1881/2006, VO (EG) 1126/2007 und für Futtermittel Richtwerte laut Empfehlung der Komm. 2006/576/EG für die Kontamination mit Deoxynivalenol (DON), Zearalenon (ZEA), Fumonisin (FUM) und mittlerweile auch für T-2 und HT-2 gemäß Empfehlung der Komm. 2013/165/EU (EU 2006a, 2006b, 2007, 2013).

In Österreich wurde das Auftreten von *Fusarium*-Arten an Körnermais in den vergangenen Jahrzehnten wiederholt untersucht (LEW *et al.* 1991, 2001; LEW 1993, DERSCH *et al.* 2008, ADLER *et al.* 2009). In dem seit 2011 umfassend durchgeführten Artenmonitoring für *Fusarium*-Pilze an Maiskolben im Zuge des KOFUMA-Projektes waren dies *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. graminearum* und *F. verticillioides* (LEMMENS *et al.* 2013, MECHTLER *et al.* 2014, 2015). *Fusarium*-Pilze produzieren artspezifische Mykotoxinspektren. *F. graminearum* bildet DON und ZEA, *F. proliferatum* und *F. verticillioides* hingegen bilden FUM und *F. subglutinans* Moniliformin und Beauvericin (LOGRIECO *et al.* 2002, DORN *et al.* 2009, MIEDANER 2012).

Fusarien können über Zuflug und Keimung der Sporen auf den Narbenfäden und nachfolgendem Mycelwachstum bis in das Korn, über Verletzungen durch Hagel oder Maiszünslerbefall oder über infizierte Maisstängel in den Maiskolben gelangen (MESTERHÁZY *et al.* 2012). Im Maisanbau sind chemische Pflanzenschutzmaßnahmen gegen Fusarien nicht so etabliert wie im Getreidebau und man ist weitgehend auf vorbeugende Maßnahmen (Fruchtfolge, Bodenbearbeitung, ausgewogene Düngung, rechtzeitige Ernte, Sortenwahl) angewiesen.

Der Sorte kommt dabei eine besondere Bedeutung zu (SCHAAF SMA *et al.* 1997, CLEMENTS *et al.* 2003, MUNKVOLD 2003, MESTERHÁZY *et al.* 2012). Art und Ausmaß des Pilzbefalls und seine Korrelation mit der Mykotoxinbelastung sind aber stark umwelt- und witterungsabhängig (DOOHAN *et al.* 2003, MUNKVOLD 2003). Mit der Anwendung künstlicher Inokulations-

methoden (LEMMENS *et al.* 1999, CLEMENTS *et al.* 2003) soll auch in Jahren mit geringem natürlichem Befallsdruck selektiert werden können. Durch unterschiedliche Applikation der Sporensuspension – Besprühen der Narbenfäden oder Injektion in den Kolben – kann die Eindringungsresistenz bzw. die Ausbreitungsresistenz der Genotypen abgetestet werden.

In der österreichischen Sortenwertprüfung (WP) werden umfangreiche Untersuchungen zu Kolbenfusariose unter natürlicher und künstlicher Infektion mit beiden Applikationsmethoden seit 2005 durchgeführt (FELDER *et al.* 2007). Seit 2011 werden Einstufungen für die Anfälligkeit von Maissorten gegenüber Kolbenfusariose auf Basis des Pilzbefalles am Kolben in der Österreichischen Beschreibenden Sortenliste publiziert (AGES 2011).

Der Zusammenhang zwischen Kolbenbefall und Mykotoxinauftreten ist in der Regel umso enger, je höher der Befallsdruck ist, bei geringem *Fusarium*-Auftreten häufig aber nicht statistisch absicherbar (FELDER *et al.* 2007, MECHTLER *et al.* 2014). Vielfach wird auch ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten von DON und ZEA diskutiert. Beide Mykotoxine können von *F. graminearum* gebildet werden. In Österreich war 2014 bei Körnermais eine hohe Belastung mit beiden Mykotoxinen gegeben. Die Untersuchung des Zusammenhanges zwischen DON und ZEA an diesen Daten ließ hier im Allgemeinen einen deutlich positiven Trend erkennen. Mehrjährig betrachtet überwiegen aber Situationen mit geringem Befallsdruck und geringen Korrelationen zwischen DON- und ZEA-Gehalten (MECHTLER *et al.* 2014). FUM werden von anderen *Fusarium*-Arten gebildet. Der FUM-Gehalt ist daher getrennt von den DON- und ZEA-Gehalten zu betrachten und als eigener Parameter zu untersuchen.

Die einzelnen Bewertungskriterien Kolbenbefall, DON-, ZEA- und FUM-Gehalt beinhalten somit zumeist keine redundanten sondern einander ergänzende Informationen betreffend Anfälligkeit für Kolbenfusariosen und Mykotoxinbildung. Die Sortenbewertung wurde daher um diese analytischen Parameter erweitert und auf bereits gelistete und neue Maissorten angewandt. Stark anfällige Sortenkandidaten können als solche rechtzeitig erkannt und bereits registrierte Sorten fundierter beschrieben werden.

Der Bewertungsalgorithmus wird beschrieben und der Einfluss von wenig anfälligeren Sorten auf die Mykotoxinbelastung dargestellt.

## Material und Methoden

Visuelle Bonituren und Mykotoxinanalysen wurden in den österreichischen Prüfserien der vier Reifegruppen des zweiten WP Jahres seit mittlerweile 2011 an jährlich etwa 33 Prüforten (vierreihige Parzellen mit zweireihigem Kerndrusch) und ca. 110 Prüf- und zugelassenen Vergleichssorten vorgenommen. Dabei wurden nicht an allen Standorten alle Erhebungen durchgeführt.

### Visuelle Befallsbonitur

Zur Befallsbonitur werden die Kolben der linken Randreihe der vierreihigen Parzellen entliescht. Die verpilzte Kolbenfläche wird an Hand der befallenen Körner ermittelt und nach einem Schlüssel auf Befallsklassen in Prozent umgelegt. Verpilzungen, die offensichtlich auf Fraßschäden der Maiszünslerlarven zurückzuführen sind, bleiben unberücksichtigt. Der Kolbenbefall wird etwa an der Hälfte der WP Versuche erhoben. Für die Beobachtung der Ausbreitungsresistenz erfolgt an den AGES Standorten Grabenegg und Gleisdorf eine künstliche Infektion der Kolben durch Injektion einer Emulsion von *F. graminearum* und *F. subglutinans* Sporen in zeitlicher Staffelung gemäß dem Blühverhalten der Sorten. Am BOKU Standort Tulln werden die Narbenfäden durch Aufsprühen einer Emulsion von *F. graminearum* Sporen für die Erhebung der Eindringungsresistenz infiziert (FELDER *et al.* 2007). Von den künstlich infizierten Parzellen liegen durchgehende visuelle Beobachtungen vor.

### Mykotoxinanalysen

Jede Parzelle wird beprobt und eine Mischprobe gebildet und unmittelbar danach getrocknet. Eine 1 kg-Probe Trockenmais je Sorte und Standort kommt zur Mykotoxinanalyse auf DON, ZEA und FUM mittels eines ELISA-Test-Kits (AgraQuant® ELISA, Romerlabs). DON wird an allen WP-Standorten untersucht, ZEA und FUM hingegen nur an ausgewählten Standorten.

### Datenauswertung

Bei Mykotoxingehalten unter der Nachweisgrenze kann die Analytik naturgemäß keine Werte liefern. In diesen Situationen wurde die Nachweisgrenze selbst als Wert angesetzt, um diese Ergebnisse einer statistischen Auswertung zugänglich zu machen. Im Hinblick auf die gegebene Rechtsschiefe in der Verteilung der Erhebungsdaten werden Medianwerte als Relativwertbezüge verwendet. Die Sortenbewertungsmethode wurde mit den Daten aus 2011 bis 2013 weiterentwickelt und an den Beobachtungs- und Analysenergebnisse aus 2014 und 2015 angewandt.

Der Methoden-Algorithmus ist mit der Statistik-Software R (R CORE TEAM 2013) programmiert. Für die Jahre 2013 und 2014 wurden zudem für den DON-Gehalt operative Heritabilitäten nach der Varianzkomponentenmethode berechnet. Nach Jahren und Reifegruppen getrennt kam ein gemischt lineares Modell zur Anwendung:

$$DON_{ij} = o_i + v_j + e_{ij}$$

wobei  $o_i$  und  $v_j$  die zufälligen Effekte Standort und Sorte sind, und  $e_{ij}$  der Versuchsfehler. Die rechtsschief verteilten DON-Gehalte wurden einer Box-Cox-Transformation entsprechend

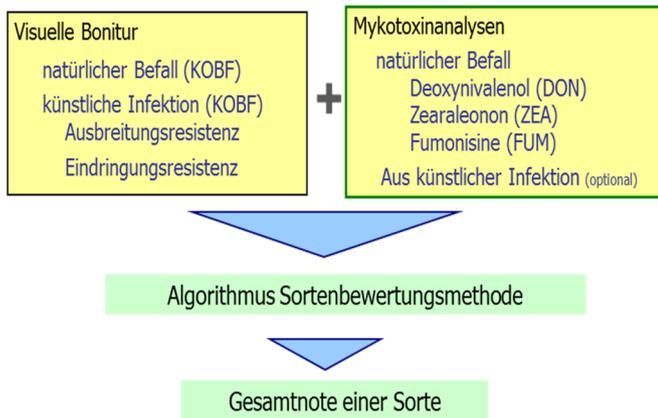
$$DON_{trans} \begin{cases} \frac{DON^\lambda - 1}{\lambda}, & \text{für } \lambda \neq 0 \\ \log(DON), & \text{für } \lambda = 0 \end{cases}$$

unterzogen, um die Modellvoraussetzungen zu erfüllen. Das optimale  $\lambda$  wird durch eine Maximum-Likelihood-Schätzung ermittelt. Die transformierten DON-Werte wurden in einem Modell angepasst, im Rahmen dessen mit der Restricted Maximum Likelihood Methode (REML) die Varianzkomponenten geschätzt wurden.

## Ergebnisse und Diskussion

Weder die visuelle Bonitur noch die Mykotoxinanalysen erfassen für sich allein die tatsächliche Gesamtbelastung. Einerseits ist die Korrelation zwischen Kolbenbefall und tatsächlicher Mykotoxinbelastung zuweilen gering, andererseits ist die Analyse aller bei Mais bekannten Mykotoxine (Nivalenol, T-2/HT-2, Ochratoxin A, u.a.) beim notwendigen Probenumfang zu aufwändig. Es erschien daher sinnvoll, die Informationen aus beiden Herangehensweisen zur Datengewinnung für eine breiter basierte Sortenbewertung zu kombinieren (Abbildung 1). Bei näherer Betrachtung der Charakteristik der Erhebungsdaten wurden die in Tabelle 1 angeführten Anforderungen für die Robustheit der Bewertungsmethode festgelegt. Demnach umfasst der Algorithmus zur Berechnung des Einstufungsvorschlages folgende Schritte:

- Berechnung sortenspezifischer Relativwerte an jedem Standort bzw. in jeder Umwelt (Ort-Jahr-Kombination) separat für jedes Bewertungskriterium
- Vergabe von sortenspezifischen Einstufungen in jeder Umwelt für jedes Bewertungskriterium
- Berechnung einer gewichteten Gesamtnote je Sorte (über alle Standorte) für jedes Bewertungskriterium mit der standortspezifischen Genotypenstreuung (Standardabweichung) als Gewichtungsfaktor
- Berechnung einer gewichteten Endnote aus den Gesamtnoten der Bewertungskriterien mit der jeweils verfügbaren Anzahl an Datenpunkten als Gewichtungsfaktoren.



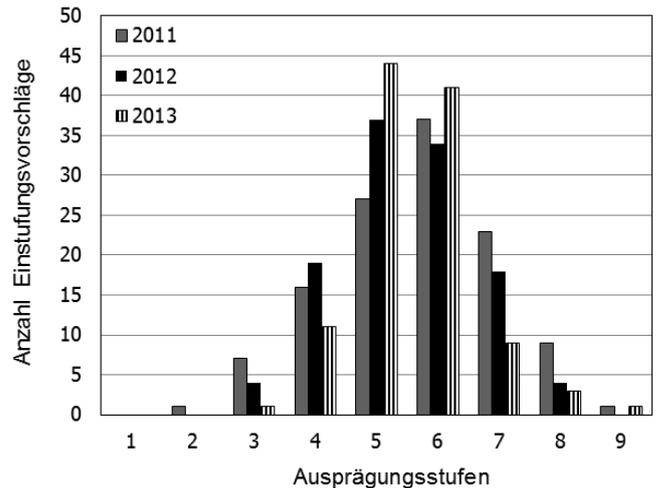
**Abbildung 1:** Schematische Darstellung des Ablaufs der multivariaten Bewertungsmethode

**Figure 1:** Scheme of the multivariate assessment method

Das Endergebnis der Methode ist ein Einstufungsvorschlag, der vom WP-Verantwortlichen auf Basis aufbereiteter Versuchsergebnisse validiert wird. Diese begutachteten Einstufungen sind Teil des WP-Berichtes für die Sortenzulassung. Die Bezeichnung *Kolbenfäule* für das Gesamtmerkmal wurde im Hinblick darauf gewählt, dass sich das Mykotoxinrisiko im Erntegut aus der Sicht des Praktikers zuerst als weniger oder stärker auftretender Kolbenbefall darstellt. Die Kolbenverpilzung kann bei Bedarf auch vom Landwirt in Ausmaß und Häufigkeit beobachtet werden und z.B. bei der Planung des Erntetermines miteinbezogen werden.

#### Ergebnisse und Erkenntnisse der Versuche 2011-2013

Die auf die oben beschriebene Art erhaltenen Einstufungsvorschläge liegen symmetrisch um die mittlere Einstufungsnote 5 verteilt vor (Abbildung 2). Wichtige Kriterien für die Optimierung der Methodenparameter waren das Differenzierungspotenzial (Gewichtungsfaktoren und enge vs. weite Bewertungsskala), die Robustheit gegenüber stark abweichenden Einzelwerten und die Adaption an die rechtsschiefe Verteilung der Beobachtungs- und Analysendaten. Mit dem Median als Relativwertbezug war auch eine symmetrisch vom mittleren Anfälligkeitsbereich ausgehend definierte Ausrichtung der Zuordnungsvorschrift für die 1-9 Skala möglich. Die Methode arbeitet grundsätzlich sowohl mit ein-



**Abbildung 2:** Häufigkeitsverteilung der Einstufungsnoten für die Anfälligkeit gegenüber Kolbenfäule (2011-2103)

**Figure 2:** Frequency distribution of classification scores for corn cob rot susceptibility (2011-2013)

auch mehrjährigen Daten. Die Testergebnisse zeigen dabei stärker differenzierte Sorteneinstufungen als bei der bisherigen Sortenbeurteilung. Sortenkandidaten mit einer starken Anfälligkeit für Kolbenfäule können so im Zuge der amtlichen WP sicherer erkannt und von einer Sortenzulassung ausgeschlossen werden.

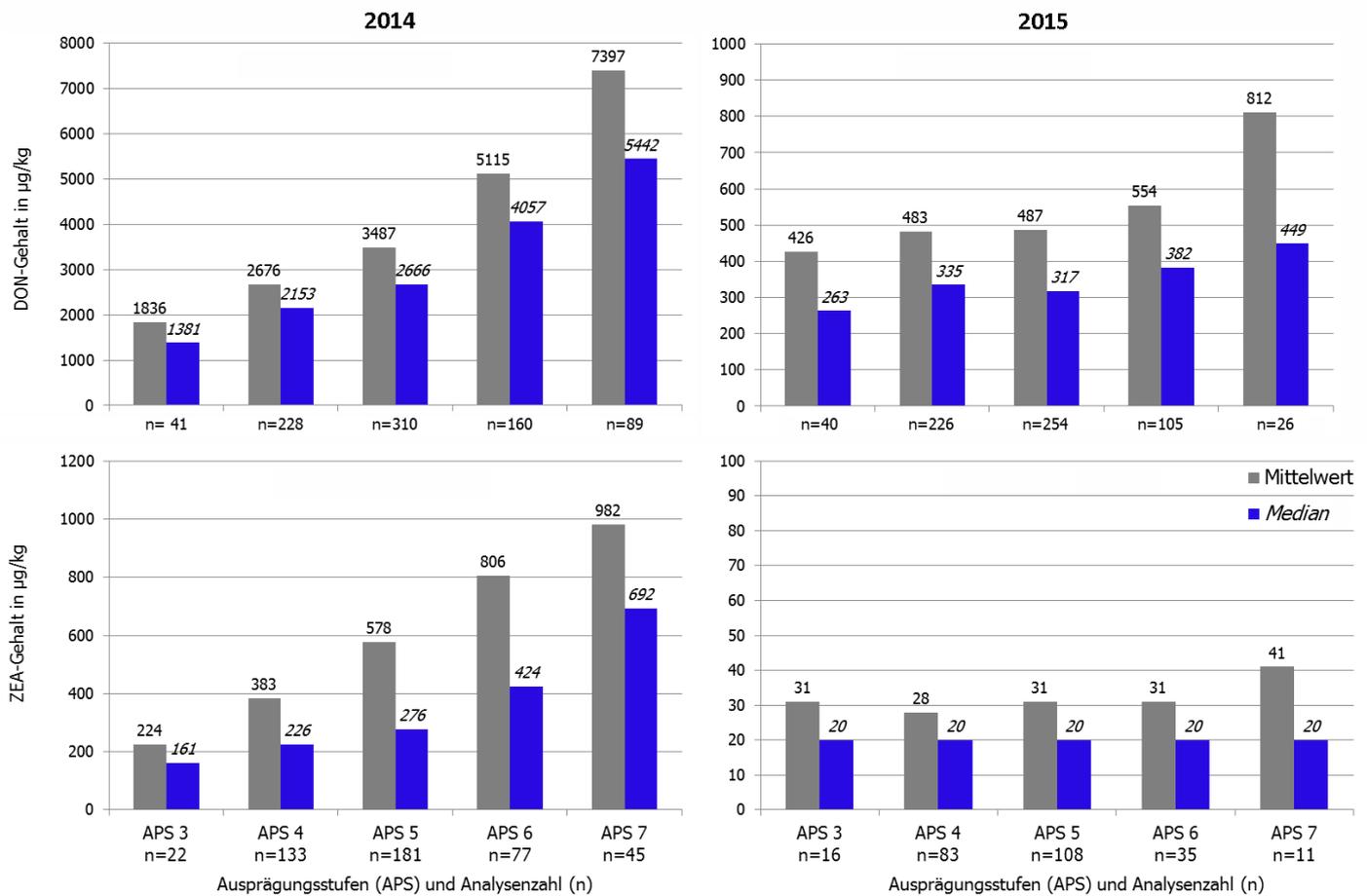
#### Sorteneinfluss auf den Mycotoxingehalt 2014-2015

Mit Stand Jänner 2016 sind knapp 140 Maissorten im Merkmal Anfälligkeit für Kolbenfäule eingestuft (AGES 2016). Am häufigsten wurde die mittlere Ausprägungsstufe (APS) 5 vergeben (38,1%), gefolgt von APS 6 (28,1%) und APS 4 (22,3%). Vier Sorten sind mit APS 3 und zwölf mit APS 7 im Merkmal Anfälligkeit für Kolbenfäule eingestuft. Durch die stärker differenzierende Bewertung gegenüber früheren Einstufungen (62% der Sorten mit APS 5 in der Beschreibenden Sortenliste 2011 (AGES 2011)) konnte der Anteil von Sorten mit mittlerer Ausprägung der Anfälligkeit vermindert werden. Sortenkandidaten mit schlechterer Einstufung als APS 7 finden keinen Eingang mehr in die Österreichische Sortenliste. Auch wenn noch eher wenige Sorten mit geringer (APS 3) bzw. geringer bis mittlerer (APS 4) Anfälligkeit für Kobenfäule vorliegen, so sind

**Tabelle 1:** Anforderungen und Lösungsansätze für die Robustheit der Sortenbewertungsmethode

**Table 1:** Requests and possible solutions for the robustness of the variety assessment method

Methodenanforderungen	Lösungsansätze
Integrativer Ansatz (visuelle Bonitur+Analytik)	Kolbenbefallsfläche (%) aus natürlicher und künstlicher Infektion und Gehaltswerte für DON, ZEA und FUM ( $\mu\text{g}/\text{kg}$ ) als Bewertungskriterien.
Mykotoxingehalte unterliegen starken Standorts- und Jahreseinflüssen, je nach Analyt können auch große Variationsbreiten im Sortiment auftreten.	Verwendung von zumindest innerhalb eines Jahres orthogonaler WP-Versuchsserien, Berechnung standortsspezifischer Relativwerte
Die Ergebnisdaten der Kolbenbonitur und der Mykotoxingehalt sind in der Regel stark rechtsschief verteilt	Median als Bezugsbasis der Relativwerte für die einzelnen Bewertungskriterien
Abfederung großer Absolutdifferenzen bzw. sehr weiter Verhältnisse nach Relativwertbildung	Umlegung der Relativwerte mittels Zuordnungsvorschrift auf eine 1-9-Skala. Sehr hohe Relativwerte gehen damit maximal nur mit Note 9 in die weiteren Berechnungen ein und nicht mit ihrem numerischen Wert
Minderung der nivellierenden Wirkung wenig differenzierender Erhebungsdaten bei der Zwischen- und Endergebnisberechnung	Gewichtungsfaktoren in Abhängigkeit von der Streuung der Daten (Standardabweichung) bei Berechnung der Gesamtnoten für die vier Bewertungskriterien als gewogenes Mittel über die Versuchsserie
Es werden nicht immer alle Bewertungskriterien an jedem Standort erhoben, eine angemessene Berücksichtigung der Aussagekraft der Standorte ist in der Ergebnisberechnung notwendig	Gewogenes Mittel über die Gesamtnoten der vier Bewertungskriterien mit der jeweiligen Anzahl an Datenpunkten in der Versuchsserie für die Endnote
Eine Kenngröße für 1-9-Einstufung bei vier Eingangsgrößen	Ausgabe einer gewichteten Endnote über die Gesamtnoten für jedes Bewertungskriterium für das Merkmal „Kolbenfäule“



**Abbildung 3:** Sorteneinstufungen für Kolbenfäule und DON- bzw. ZEA-Gehalte in den Prüffahren 2014 und 2015

**Figure 3:** Variety classification scores for corn cob rot susceptibility and mycotoxin content (DON, deoxynivalenol; ZEA, zearalenone) in 2014 and 2015

sie doch mittlerweile in jeder Reifegruppe vertreten (AGES 2016).

Die Anwendung der neuen Sortenbewertungsmethode auf die Ergebnisse der Jahre 2014 und 2015 unterstreicht den maßgeblichen Sorteneinfluss auf die Mykotoxinbelastung, insbesondere bei hohem Infektionsdruck wie im Jahr 2014 am Beispiel der DON- und ZEA-Gehalte (Abbildung 3). Für die Sortengruppe mit APS 3 für Kolbenfäule lagen Mittelwert und Median für den DON-Gehalt mit 1.836 µg/kg bzw. 1.381 µg/kg etwa um den Faktor vier niedriger als die entsprechenden Werte der Sorten mit APS 7 (7.397 µg/kg bzw. 5.442 µg/kg), bei ebenso durchwegs signifikant ansteigenden Gehaltsniveaus der Zwischenstufen. Ein ähnliches Bild ergibt sich bei den ZEA-Gehalten mit einem Mittelwert und Median von 244 µg/kg bzw. 161 µg/kg bei Sorten mit APS 3 gegenüber den ebenso vierfach höheren Gehaltswerten für Sorten mit APS 7. Beim FUM-Gehalt lagen die Medianwerte bei den Sortengruppen mit APS 3 bis APS 6 im Bereich der Nachweisgrenze, für die Sortengruppe mit APS 7 bei knapp 450 µg/kg. Die Mittelwerte stiegen dagegen von 366 µg/kg für die Sortengruppe mit APS 3 auf 1961 µg/kg für die Sortengruppe mit APS 7 an.

Bei der wesentlich geringeren *Fusarium*- und Mykotoxinbelastung 2015 sind die genotypisch bedingten Unterschiede in den Mykotoxingehalten natürlich schwächer ausgeprägt und waren statistisch nicht signifikant. Die DON-Gehalte (Mittelwert und Median) liegen für die Sortengruppe mit APS 7 „nur“ knapp zweimal so hoch wie für Sorten mit APS 3. Die ZEA-Gehalte zeigten eine noch geringere Reaktion, bei den Mittelwerten ist für APS 7 eine geringfügig höhere Belastung erkennbar. Bei den FUM-Gehalten lagen die Medianwerte wie bei ZEA im Bereich der Nachweisgrenze (200 µg/kg). Die Mittelwerte waren ab APS 4 bereits deutlich höher, zeigten aber für 2015 infolge der bei den FUM-Gehalten gegebenen großen Variabilität der Einzelwerte und

der im Vergleich zu DON geringeren Datenlage keine weitere Differenzierung zwischen APS 4 bis 7 (690 bis 779 µg/kg).

Angesichts des starken Umwelteinflusses auf das Auftreten von Kolbenfäule stellt sich die Frage nach der Heritabilität, die zumindest mit einem Teil der Daten noch beleuchtet werden soll. Für die DON-Gehalte aus 2013 und 2014 wurden Heritabilitäten getrennt nach Jahren und den Versuchsserien entsprechend den Reifegruppen mit ihren jeweils unterschiedlichen Standorten berechnet.

Im Jahr 2014 wurde in den Körnermaissortenversuchen ein Gesamtmedian für DON von 3016 µg/kg gegenüber nur 402 µg/kg in 2013 festgestellt. Im Jahr mit der geringen Mykotoxinbelastung liegen die Heritabilitäten demnach auch mit 0,28 bis 0,67 deutlich niedriger als bei der hohen Belastung im Jahr 2014 (0,82 bis 0,90) (Tabelle 2) und den dadurch erst möglichen hohen Schwankungen in den DON-Gehalten zwischen den Sorten. ROBERTSON *et al.* (2006) berichten von Heritabilitäten in ähnlichem Ausmaß (0,47 bis 0,86) für zwei Maispopulationen, allerdings für FUM-Gehalte und für den Kolbenbefall durch *F. verticillioides* und *F. proliferatum*.

**Tabelle 2:** Operative Heritabilitäten für den DON-Gehalt 2013 und 2014

**Table 2:** Operative heritabilities for DON contents 2013 and 2014

Körnermais WP2	2013			2014		
	Sorten	Orte	h <sup>2</sup>	Sorten	Orte	h <sup>2</sup>
Sehr früh bis früh	14	4	0,28	17	7	0,90
Mittelfrüh	30	7	0,52	30	8	0,82
Mittelfrüh bis mittelspät	30	8	0,66	30	8	0,88
Mittelspät bis sehr spät	36	9	0,67	36	8	0,83

Im Hinblick auf die lange Abreifezeit von Körnermais im Frühherbst und Herbst und den beschränkten Möglichkeiten des Landwirtes, den Auswirkungen einer ungünstigen Abreife- witterung auf die Entwicklung des Kolbenbefalls und der Mykotoxingehalte wie z.B. durch eine vorgezogene Ernte zu begegnen, ist eine geringe Sortenanfälligkeit für Kolbenfäule mit geringer Neigung zu Mykotoxinbildung insbesondere in Befalls- jahren eine wichtige Voraussetzung für den Anbauerfolg.

#### Danksagung

Das KOFUMA-Projekt 2011-2013 und die weiterführenden Programme 2014-2015 wurden vom BMLFUW und den Bundesländern Bgld, Ktn, NÖ, OÖ und Stmk gefördert und von den Züchtern und den Wirtschaftsbeteiligten aus Handel, Futtermittel- und Verarbeitungsindustrie als Finanzierungspartner unterstützt. Die Landwirtschaftskammern der genannten Bundesländer waren jeweils als Kooperationspartner eingebunden.

#### Literatur

ADLER A, KIROJE P (2009) *Fusarium*-Arten und Mykotoxine bei Mais in Österreich, Erntemonitoring 2004-2007. ALVA-Mitteilungen 7: 103-108.

AGES (2011) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2011. Schriftenreihe 21/2011. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) GmbH, Wien.

AGES (2016) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2016, in Druck. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) GmbH, Wien. [<http://www.baes.gv.at/pflanzensorten/oesterreichische-beschreibende-sortenliste/mais/koernermais/mykotoxingehalte/>; accessed 8 Mar 2016]

EU (2006a) Empfehlung der Kommission (2006/576/EG) vom 17. August 2006 betreffend das Vorhandensein von Deoxynivalenol, Zearalenon, Ochratoxin A, T-2- und HT-2-Toxin sowie Fumonisin in zur Verfütterung an Tiere bestimmten Erzeugnissen. Amtsblatt der Europäischen Union L 229: 7-9. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/ALL/?uri=CELEX%3A32006H0576>; accessed 8 Mar 2016]

EU (2006b) Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 der Kommission vom 19. Dezember 2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln. Amtsblatt der Europäischen Union L 364: 5-24. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=celex%3A32006R1881>; accessed 8 Mar 2016]

EU (2007) Verordnung (EG) Nr. 1126/2007 der Kommission vom 28. September 2007 zur Änderung der Verordnung (EG) Nr. 1881/2006 zur Festsetzung der Höchstgehalte für bestimmte Kontaminanten in Lebensmitteln hinsichtlich Fusariumtoxinen in Mais und Maiserzeugnissen. Amtsblatt der Europäischen Union L 255: 14-17. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/de/ALL/?uri=CELEX%3A32007R1126>; accessed 8 Mar 2016]

EU (2013) Empfehlung der Kommission vom 27. März 2013 über das Vorhandensein der Toxine T-2 und HT-2 in Getreiden und Getreideerzeugnissen. Amtsblatt der Europäischen Union L 91: 12-15. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/?uri=CELEX%3A32013H0165>; accessed 8 Mar 2016]

CLEMENTS MJ, KLEINSCHMIDT CE (2003) Evaluation of inoculation techniques for *Fusarium* ear rot and fumonisin contamination of corn. Plant Dis 87: 147-153. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.2.147

DERSCH G, ADLER A, FELDER H, LEMMENS M, LIEBHARD P, OBERFORSTER M, ÖHLINGER R, PLANK M, SCHLEICHER C, STÜGER HP, ZWATZ E (2008) Strategien zur Minimierung einer Fusariuminfektion bzw. Mykotoxinbelastung bei Getreide und Mais durch pflanzenbauliche Maßnahmen im Kontext mit einer Risikobewertung sowie des Risikomanagements bei der Getreideübernahme in den Anbauregionen Österreichs. Endbericht zum Forschungsprojekt, Dafne Nr. 100012. AGES, Wien.

DOOHAN FM, BRENAN J, COOKE BM (2013) Influence of climatic factors on *Fusarium* species pathogenic to cereals. Eur J Plant Pathol 109: 755-768. DOI: 10.1023/A:1026090626994

DORN B, FORRER HR, SCHÜRCH S, VOGELANG S (2009) *Fusarium*-Arten und Mykotoxine auf Mais in der Schweiz. Agrarforschung 16: 232-237.

FELDER H, DERSCH G, PLANK M, ÖHLINGER R (2007) Verringerung der *Fusarium*- und Mykotoxinbelastung durch Sortenwahl: Ergebnisse bei Mais. ALVA-Mitteilungen 5: 85-88.

LEMMENS M (1999) Anwendung künstlicher Infektionsmethoden zur Kolbenfusariosen-Resistenzbestimmung bei Mais. Bericht 50. Tagung der Vereinigung der Österreichischen Pflanzzüchter, pp 63-68. BAL Gumpenstein, Irdring.

LEMMENS M, MECHTLER K (2013) Droht eine Invasion von *Fusarien* aus dem Süden? Der Fortschrittliche Landwirt 20/2013: 36-37.

LEW H (1993) Die aktuelle Mykotoxinsituation in der heimischen Landwirtschaft. Veröff BA Agrarbiol Linz 21: 5-26.

LEW H, ADLER A, EDINGER W (1991) Moniliformin and the European corn borer (*Ostrinia nubilalis*). Mycotoxin Res 7, Suppl 1: 71-76. DOI: 10.1007/BF03192189

LEW H, ADLER A, EDLINGER W, BRODACZ E, KIENDLER E, HINTERHOLZER J (2001) *Fusarien* und ihre Toxine bei Mais in Österreich. Bodenkultur 52: 199-207.

LOGRIECO A, MULÈ G, MORETTI A, BOTTALICO A (2002) Toxigenic *Fusarium* species and mycotoxins associated with maize ear rot in Europe. Eur J Plant Pathol 108: 597-609. DOI: 10.1023/A:1020679029993

MECHTLER K, FELDER H, REITER E, KUCHLING S, LEMMENS M (2014) Optimierung einer zuverlässigen Methodik zur Bewertung der genetischen Bestimmtheit und Differenzierung der Anfälligkeit gegenüber Kolbenfusariosen im Maissortiment in Österreich. Endbericht zum Forschungsprojekt KOFUMA, Dafne Nr. 100972. AGES, Wien.

MECHTLER K, KUCHLING S, KESSNER J, FELDER H, LEMMENS M (2015) Evaluierungsprogramm für Mykotoxine bei Körnermais 2014 in Österreich. Abschlussbericht, AGES, Wien.

MESTERHÁZY Á, LEMMENS M, REID LM (2012) Breeding for resistance to ear rots caused by *Fusarium spp.* in maize – a review. Plant Breed 131: 1-19. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2011.01936.x

MIEDANER T (2012) Mykotoxine in Weizen und Mais. DLG-Verlag, Frankfurt am Main.

MUNKVOLD G (2003) Epidemiology of *Fusarium* diseases and their mycotoxins in maize ears. Eur J Plant Pathol 109: 705-713. DOI: 10.1023/A:1026078324268

R CORE TEAM (2013) R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.

ROBERTSON LA, KLEINSCHMIDT CE, WHITE DG, PAYNE GA, MARAGOS CM, HOLLAND JB (2006) Heritabilities and correlations of *Fusarium* ear rot resistance and fumonisin contamination resistance in two maize populations. Crop Sci 46: 353-381. DOI: 10.2135/cropsci2005.0139

SCHAAFSMA AW, NICOL RW, REID LM (1997) Evaluating commercial maize hybrids for resistance to *Giberella* ear rot. Eur J Plant Pathol 103: 737-746. DOI: 10.1023/A:1008629629069

STATISTIK AUSTRIA (2015) Versorgungsbilanzen Getreide 2009-2013.



## Altering the dietary fiber content of wheat flour by breeding to improve food nutritional value

Marianna RAKSZEGI\*, Boglárka NÉMETHNÉ KISGYÖRGY\*, Karolina BEDE\*, László LÁNG\*, Zoltán BEDŐ\*

\* Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, Brunszvik u. 2, 2462 Martonvasar, Hungary

(✉) rakszegi.mariann@agr.ar.mta.hu

**Abstract** To increase the dietary fiber content of popular cereal products in Hungary, breeding programmes were started to alter the resistant starch and/or water-extractable arabinoxylan (WEAX) content of refined (white) wheat (*Triticum aestivum* L.) flour. *Sgp* (starch granule proteins) mutant lines, originating from EMS (ethyl methane sulfonate) treatments, natural mutant wheat lines and Chinese wheat variety 'Yumai-34' were used for crossings. Several high-amylose and high-WEAX lines were identified and characterised until now.

A complete SGP null mutant (*Sgp-A1B1D1 null*) winter wheat line was crossed with three wheat varieties in order to increase the resistant starch content of wheat. Three backcrosses (BCs) were carried out and marker assisted selection used to identify lines of each cross carrying all three mutant alleles. BC<sub>3</sub>, BC<sub>2</sub>×BC<sub>2</sub>, F<sub>3</sub>, F<sub>4</sub> and F<sub>5</sub> lines (2012-2014) were studied in detail for physical (TKW, thousand kernel weight), compositional (protein, gluten and amylose content) and starch viscosity properties (RVA, rapid visco analyser). Ten triple mutant high-amylose lines (≈40%) were identified among BC<sub>2</sub>×BC<sub>2</sub> lines, which had high protein content (>14%), low starch content, gluten index, starch viscosity values and TKW. Two lines had moderately high amylose (≈30%) content, with outstanding gluten quality, but modified starch viscosity properties. Preliminary yield trials showed that high-amylose genotypes could compete with normal wheat varieties.

Similar findings with respect to grain yield and TKW were observed for lines having a high WEAX content in the flour. At the same time, WEAX content correlated negatively with maturity (heading date) and flour yield, but positively with

water absorption in 45 lines of the F<sub>8</sub>-F<sub>10</sub> (2013-2014) generation of crosses between several European varieties ('Ukrainka', 'Lupus', 'Mv Emese', 'Mv Mambo', 'Courtot') and 'Yumai-34'. These lines contained twice or three times more WEAX in the flour than normal. WEAX was determined annually by spectrophotometry. The selected 45 lines had outstanding high WEAX contents (7.10-11.56 mg/g), 30% of the breeding lines exhibited equal or higher WEAX contents than the parental genotype 'Yumai-34' (9 mg/g). A great variation was observed for the high WEAX breeding lines with respect to other quality traits: protein content varied between 10 and 17%, wet gluten content was between 20% and 42%, and Farinograph dough stability varied between 4 and 19 minutes. Very promising is that all selected lines had at least average (*i.e.* B1) milling quality. It can be summarized that there is a high chance to identify wheat genotypes with a high dietary fiber content in the flour by traditional breeding methods and conscious selection.

**Acknowledgments** This research was supported by OTKA 112169 project (2015-2018). The identification of wheat genetic resources and development of pre-breeding materials was also supported by AGR\_PIAC\_13-1-2013-0074 project.

**Keywords** Amylose · arabinoxylan · dietary fiber · flour · nutrition · resistant starch · *Triticum aestivum*

### Further reading

RAKSZEGI M, KISGYÖRGY BN, KISS T, SESTILI F, LÁNG L, LAFIANDRA D, BEDŐ Z (2015) Development and characterization of high-amylose wheat lines. *Starch/Stärke* 67: 247-254. DOI: 10.1002/star.201400111

VAN HUNG P, MAEDA T, MORITA N (2006) Waxy and high-amylose wheat starches and flours - characteristics, functionality and application. *Trend Food Sci Technol* 17: 448-456. DOI: 10.1016/j.tifs.2005.12.006



## Phytochemicals in cereals and their use: A case study on anthocyanins

Heinrich GRAUSGRUBER\*, Christina FUCHS\*, Klaus ATZGERSDORFER\*<sup>§</sup>, Johanna BARON\*<sup>‡</sup>,  
Josua Timotheus OBERLERCHNER<sup>#</sup>, Stefan BÖHMDORFER<sup>#</sup>

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

<sup>§</sup> Current address: Saatbau Linz, Maiszuchtstation Schönering, Angerweg 19, 4073 Wilhering, Austria

<sup>‡</sup> Current address: Secobra Saatzucht GmbH, Feldkirchen 3, 85368 Moosburg/Isar, Germany

<sup>#</sup> Department of Chemistry, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Konrad Lorenz Str. 24, 3430 Tulln, Austria

(✉) heinrich.grausgruber@boku.ac.at

**Abstract** Small grain cereals and maize are worldwide major sources of daily consumed carbohydrates and, therefore, dietary energy. Phytochemicals are chemical compounds that may have protective or disease preventive effects due to e.g. antioxidant or hormonal effects occurring naturally in plants. In cereal grains phytochemicals are located, together with minerals and vitamins, mainly in the outer layers of the grain which are removed as bran during milling. Therefore, only whole-grain products provide a cereal diet rich in fibre, vitamins, minerals and phytochemicals. Anthocyanins are red, blue or purple pigments belonging to the flavonoids which occur in all kind of plant tissues. The interest in anthocyanins has increased in recent years as they represent alternatives to artificial food colorants and research suggests potential health benefits due to their antioxidant properties. In cereals, anthocyanins can cause purple, blue or deep purple seed colors depending on the type of anthocyanin and/or the seed layer where the pigments are expressed. Today, anthocyanin pigmented cereal grains are processed into whole-grain products with specific color and taste as well as into anthocyanin extracts for further processing into functional foods. Anthocyanin pigmented cereal grains, their origin, traditional use and recent research on their composition, health benefits and use in food science are introduced. Moreover, examples of recent advances in the development of wheat with increased anthocyanin concentration and antioxidant activity by the combination of different genetic backgrounds (*i.e.* blue aleurone and purple pericarp) are presented.

**Keywords** Antioxidant activity · blue aleurone · health benefit · purple pericarp · *Triticum aestivum* · whole grain

### Introduction

The daily consumption of a diet rich in bioactive compounds is thought to minimize the risk of developing chronic diseases and, on the other hand, to promote well-being and health. The beneficial effects of plant secondary metabolites, also called phytochemicals or nutraceuticals, have been attributed to their antioxidant activities, including the potential to counteract inflammation (ROMANO *et al.* 2013, GUPTA *et al.* 2014). Cereal grains are excellent sources for energy, as they contain high amounts of carbohydrates and valuable amounts of protein and lipids, but cereals also contain a range of phytochemicals, vitamins and minerals (McKEVITH 2004). As the latter components are mainly located in the outer grain layers, health-promoting effects are associated with the regular consumption of wholegrain foods (JONNALAGADDA *et al.* 2011, BORNEO & EDEL LÉON 2012). Polyphenols are phytochemicals with redox properties, ubiquitous present as complex mixtures of related compounds in plant foods and beverages (PÉREZ-JIMÉNEZ *et al.* 2010, HOLLMAN 2014). Anthocyanins are probably most prominent among polyphenols as they are responsible for the red, purple and blue hues in fruits, vegetables, grains and flowers (KONCZAK & ZHANG 2004).

### Maize

Purple maize is mainly cultivated in Peru and Bolivia. The anthocyanins of purple maize occur in the pericarp or aleurone layer and the most abundant one is cyanidin-3-glucoside (JING & GIUSTI 2007, ŽILIC *et al.* 2012). In pigmented maize the effect of anthocyanins to antioxidative activity is highly significant (LOPEZ-MARTINEZ *et al.* 2009, ŽILIC *et al.* 2012, RODRÍGUEZ *et al.* 2013). The high anthocyanin concentration of purple maize makes the extract a good alternative as a food colorant with a long history since the Inca civilization. Several patents on the processing of maize anthocyanins and applications for their use as colorants are published (DE PASCUAL-TERESA *et al.* 2002).

Traditionally, the purple corn landrace 'Maíz Morada' is processed in Peru and Bolivia into various dishes and beverages. For example, 'Chicha Morada' is a drink known for its many health benefits prepared by cooking purple corn with pineapple and quincepeel, cinnamon and cloves; 'Mazamorra Morada' is a type

of pudding prepared by cooking the purple corn with pineapple, cinnamon and sweet potato flour; 'Api' is one of the most popular drinks also known as 'Inca's dessert'. Besides the traditional use of Andean people to color foods and beverages new 'industrialized' food products made from purple maize are already widely marketed, e.g. purple tortilla chips.

### Rice

The seed coat of rice (*Oryza sativa* L.) is usually white, but varieties with red, purple and 'black' (dark purple) grains due to anthocyanins in the pericarp, exist also. Colored rice is traditionally used in Asia alone or in mixes with other rice or grains in folk medicine, religion and local cuisine (AHUJA *et al.* 2007). In recent times extracts of colored rice varieties are used widely in Asia as functional food and natural food colorants. Various health effects were established in recent years for anthocyanin extracts from red or 'black' rice (e.g. CHEN *et al.* 2006, HOU *et al.* 2010, YANG *et al.* 2011, TANAKA *et al.* 2013). Both in red and 'black' rice cyanidin-3-glucoside is the predominant anthocyanin (SOMPONG *et al.* 2011, MIN *et al.* 2012, HOU *et al.* 2013). Besides traditional products a wide range of Western-style foods made from colored rice, e.g. chips, snacks, instant rice mixes and noodles, alcoholic beverages, etc. are commercially available and merchandised as healthy food.

### Barley

Black and purple pigmentation in barley (*Hordeum vulgare* L.) affects both hull and pericarp (LUNDQVIST *et al.* 1997). While black lemma and pericarp is caused by a melanin-like substance, purple pigmentation is due to anthocyanins which are also responsible for blue aleurone which is only visible in case of naked barley. Black and purple barley occur mainly in African and Asian landraces where they are used for traditional dishes, beverages and feed (CHOO *et al.* 2005). Antioxidant capacity and radical scavenging activity of blue and purple barley were shown to be higher than in black and yellow grained types (KIM *et al.* 2007, LEE *et al.* 2013). Cyanidin-3-glucoside is the most common anthocyanin in purple barley, whereas delphinidin-3-glucoside is the most abundant anthocyanin in blue barley (KIM *et al.* 2007, SIEBENHANDL-EHN *et al.* 2011).

Colored barley varieties are used in African and Asian countries for traditional dishes and beverages (TASHI 2005, ETICHA *et al.* 2009, 2010, LEE *et al.* 2010). In Europe and North America seeds or grain mixes with hull-less Asian or Ethiopian heirloom varieties are rarely offered in health-food shops, organic farm shops or web shops, sometimes under registered trademarks. Contrary to maize and rice, barley anthocyanins are due to lower concentrations in the grain and lower grain yield of barley, hitherto not commercially exploited.

### Wheat

Due to its adaptability common wheat (*Triticum aestivum* L.) is a major cereal crop in many countries of the world and accounts for more than a quarter of the world cereal production. Wheat grains are usually white or red grained, however, also two types of anthocyanin pigmentation are described, i.e. purple pericarp and blue aleurone. Purple pericarp was already described before 1900 by WITTMACK (1879) and KÖRNICKE (1885) for samples of tetraploid wheat collected in East Africa. At the beginning of the 20<sup>th</sup>

century purple wheat from Abyssinia was widely distributed among European plant scientists. In the second half of the 20<sup>th</sup> century the purple pericarp trait was introgressed from the Ethiopian resources into hexaploid wheat by researchers from New Zealand (COPP 1965). Meanwhile purple grained wheat varieties were released in several countries. Interspecific crossing activities in the first half of the 20<sup>th</sup> century in Germany, Austria and Czechoslovakia gave also rise to various European *Blaukorn* germplasm, wheat types with a blue pigmented aleurone layer. The source of the blue aleurone trait in this material was *T. boeoticum* (ZELLER *et al.* 1991). At the same time interspecific crosses with *Agropyron* species also resulted in various blue grained amphiploids, chromosome substitution and translocation lines (ZEVEN *et al.* 1991). In the last years 'deep/dark purple' grained wheat germplasm was created by combining the purple pericarp and blue aleurone genetics (SUN *et al.* 1999, SYED JAAFAR *et al.* 2013) (Figure 1). Distinct anthocyanin profiles were observed for blue and purple wheat with delphinidin-3-glucoside and cyanidin-3-glucoside being the predominant anthocyanins in blue and purple grains, respectively (see SYED JAAFAR *et al.* 2013 and references therein). Various studies demonstrated a higher antioxidant activity of purple and blue grained genotypes compared to red or white ones.



**Figure 1:** Wheat grain colours and grain cross sections: white, purple pericarp, deep purple, blue aleurone (clockwise from top left). In the cross section of the 'deep purple' type both the blue and purple colouration of the aleurone layer and the pericarp, respectively, are apparent.

Purple tetraploid wheat landraces are traditionally used for food and beverages in Ethiopia (Geleta *et al.* 2009). In New Zealand, Austria and Canada wholemeal bread from purple wheat and in China products such as instant noodles are marketed. As the anthocyanins are located in the outer grain layers wholemeal or bran enriched flour has to be used to process characteristic food products. Thereby, other whole grain health promoting components, e.g. dietary fibers, minerals and vitamins, will be transmitted too. During processing it has to be considered that heat treatments can degrade anthocyanins.

## Material and methods

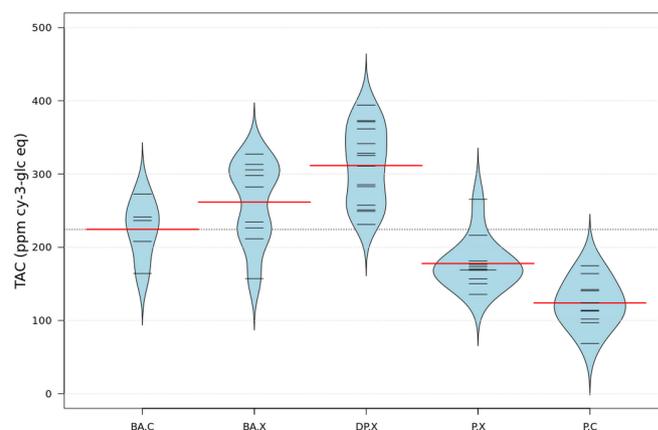
Since 2004 various crosses between red, white, purple and blue grained genotypes were carried out including purple pericarp resources 01C0200501, 46990, 49426, 82521, AUS30435, BVAL216120, BVAL258027, BVAL258034, C1tr17422 and J.1083, and blue aleurone resources BVAL214025, PI634538, PI634539 and PI634540. Selection of grain colour of progenies is done by visual scoring and classification into six different colour types: (i) white, (ii) red, (iii) purple, (iv) deep/dark purple, (v) blue (incl. dark blue), (vi) blue+purple. From the F<sub>5</sub> onwards total anthocyanin content (TAC) is determined by spectrophotometry. Additionally, for 'deep purple' and 'blue+purple' genotypes the anthocyanin profile is checked either by HPLC or HPTLC (SYED JAAFAR *et al.* 2013, Atzgersdorfer 2015, Fuchs 2015). Antioxidant activity is determined by the TEAC/ABTS assay according to RE *et al.* (1999).

## Results and discussion

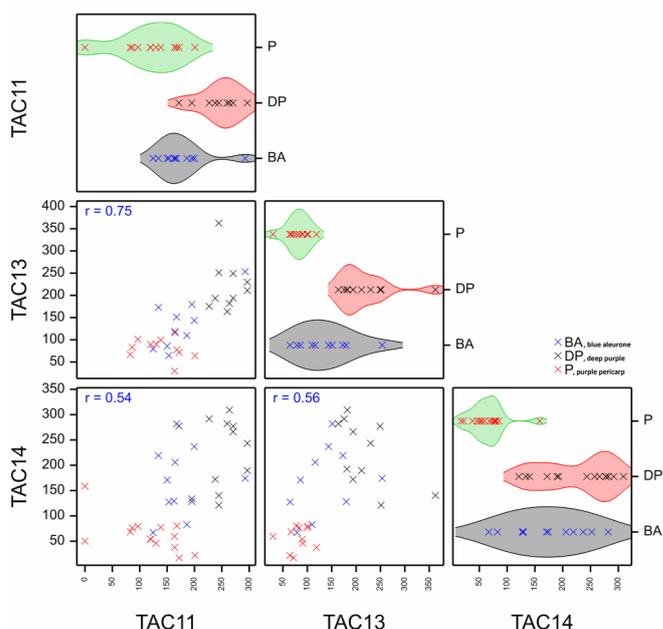
Increased total anthocyanin contents in blue, purple and deep purple grained progenies compared to the crossing parents were already demonstrated by BARON *et al.* (2012) and SYED JAAFAR *et al.* (2013) and confirmed by recent experiments. ATZGERSDORFER (2015) established a HPTLC method which was recently improved (FUCHS 2015) and allows now both the identification and quantification of anthocyanins in wheat bran extracts. Figure 2 displays the total anthocyanin contents (TAC) of anthocyanin pigmented crossing parents and progenies and reveals that highest pigment concentrations were observed for 'deep purple' breeding lines. Figure 3 displays the correlation between the same breeding lines across years and demonstrates on the one hand also higher TAC in blue and deep purple lines, but also on the other hand a higher phenotypic stability with respect to the anthocyanin pigmentation of these two types. Whereas purple lines showed TAC up to 200 ppm in 2011, it was <150 ppm in 2013 and with the exception of one genotype <100 ppm in 2014. Contrary deep purple lines showed stable TAC between 200 and 250 ppm, and blue lines an equal distribution around a mean of 150-180 ppm. The higher environmental stability of blue aleurone types compared to purple pericarp types was also found by ABDEL-AAL *et al.* (2006). Also abiotic stress and fertilization can affect the anthocyanin biosynthesis in wheat grains (HOSSEINIAN *et al.* 2008, BUSTOS *et al.* 2012).

Together with a higher TAC, deep purple breeding lines also realized higher antioxidant activities (Figure 4). Selecting the 18 breeding lines which exhibited the 25% highest TAC resulted in 16 deep purple, 1 blue aleurone and 1 purple pericarp line, from which 12 deep purple lines were also among the 25% of genotypes with the highest antioxidant activity. Among the latter lines there were also 3 purple lines with relatively low TAC, indicating that not only anthocyanins are responsible for antioxidant activity but also other phenolic compounds, e.g. phenolic acids. Therefore, high antioxidant activities in wheat grains can be realised either by increasing the TAC, other phenolic compounds or other antioxidants, e.g. carotenoids, tocopherols etc. A better understanding of the biosynthetic pathways of anthocyanins and other phenolic compounds and the knowledge of their individual antioxidant activity and bioavailability will be necessary to significantly

improve the antioxidant activity and, therefore, the health benefit of the whole wheat grain in the future. Highest antioxidant activities in purple grained wheat and/or wheat products were also demonstrated by LI *et al.* (2005), SIEBENHANDL *et al.* (2007) and LI & BETA (2011). In these studies the pigmented samples had also the highest total phenolic content. Further studies will be necessary to evaluate the bioavailability and antioxidant activity of wheat anthocyanins in processed food products. ABDEL-AAL *et al.* (2008) demonstrated that pigmented wheat extracts significantly suppressed both hydrogen peroxide-induced intracellular oxidation and bacterial lipopolysaccharide-induced nitric oxide production, but also observed that the type of aglycone and sugar seems to have a significant impact on antioxidant properties. A recent review on *in vitro* and *in vivo* studies of antioxidant properties of cereal grains was published by MASISI *et al.* (2016), however, only a few *in vivo* studies dealt specifically with anthocyanins and all of them with 'black' rice.

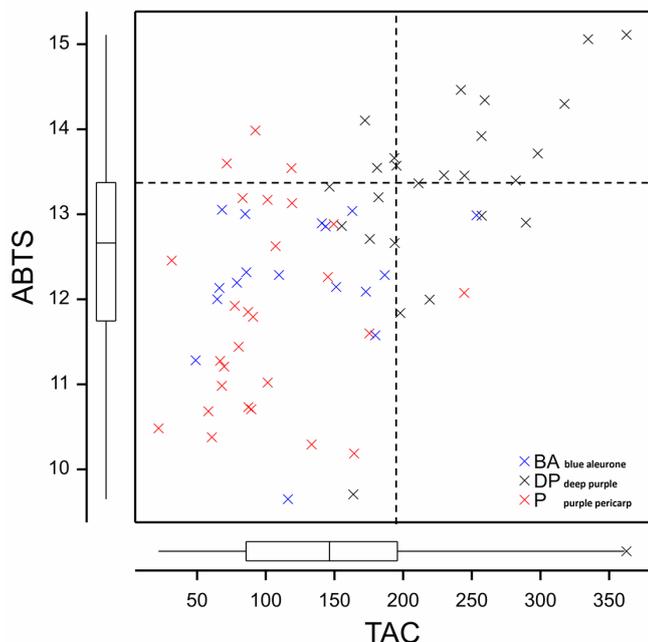


**Figure 2:** Variability of the total anthocyanin content (TAC expressed as kuromanin equivalents) of winter wheat grown in Raasdorf 2014 (BA.C, blue aleurone crossing parents; BA.X, blue grained progenies (BA.X); DP.X, deep purple grained progenies; P.X, purple grained progenies; P.C, purple pericarp crossing parents; mean values are represented by red lines; TAC was calibrated directly on HPTLC plates).



**Figure 3:** Correlation and variability of total anthocyanin content (TAC) of blue aleurone, purple pericarp and deep purple wheat breeding lines in 2011, 2013 and 2014. Presented results are for the same nursery of breeding lines grown in each year in Raasdorf, eastern Austria.

Whereas TAC was already significantly improved in the new breeding lines, grain yield is still limited in blue aleurone and deep purple germplasm. Considering grain yield data of 108 purple, 20 blue and 51 deep purple from 2015 the best performing blue aleurone lines showed a grain yield penalty of 25% compared to blue aleurone variety 'Skorpion'. The best deep purple lines performed 10-25% inferior to the artificial mean of 'Skorpion' and purple varieties 'Indigo', 'Rosso' and 'Ceraso'. With respect to purple grained lines the best 25% outperformed the artificial check (mean of 'Indigo', 'Rosso' and 'Ceraso') by up to 37% which can be explained by the fact, that more advanced material is already available in the purple pericarp germplasm.



**Figure 4:** Relationship between total anthocyanin content (TAC, ppm kuromanin equivalents) and antioxidant activity (ABTS, mM Trolox equivalents/1000 g dm) of blue aleurone, purple pericarp and deep purple wheat breeding lines (Raasdorf 2013).

## References

ABDEL-AAL ESM, YOUNG JC, RABALSKI I (2006) Anthocyanin composition in black, blue, pink, purple, and red cereal grains. *J Agric Food Chem* 54: 4696-4704. DOI: 10.1021/jf0606609

ABDEL-AAL ESM, ABOU-ARAB AA, GAMEL TH, HUCL P, YOUNG JC, RABALSKI I (2008) Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties. *J Agric Food Chem* 56: 11171-11177. DOI: 10.1021/jf802168c

AHUJA U, AHUJA SC, CHAUDHARY N, THAKRAR R (2007) Red rices – past, present and future. *Asian Agri-Hist* 11: 291-304.

ATZGERSDORFER K (2015) Analyse des Anthocyaningehaltes und der antioxidativen Wirkung von Purpurweizen × Blaukornweizen-Kreuzungen. Masterarbeit, Universität für Bodenkultur, Wien.

BARON J, SIEBENHANDL-EHN S, SYED JAAFAR SNB, BÖHMDORFER S, ROSENANU T, GRAUSGRUBER H (2012) Purpurweizen – geht's noch bunter? Steigerung des Anthocyaningehaltes in Blaukorn-×Purpurweizen Kreuzungen. 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, pp 87-90. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irnding.

BORNEO R, EDEL LÉON A (2012) Whole grain cereals: functional components and health benefits. *Food Funct* 3: 110-119. DOI: 10.1039/c1fo10165j

BUSTOS VD, RIEGEL R, CALDERINI DF (2012) Anthocyanin content of grains in purple wheat is affected by grain position, assimilate availability and agronomic management. *J Cereal Sci* 55: 257-264. DOI: 10.1016/j.jcs.2011.12.001

CHEN PN, KUO WH, CHIANG CL, CHIOU HL, HSIEH YS, CHU SC (2006) Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. *Chem-Biol Interact* 163: 218-229. DOI: 10.1016/j.cbi.2006.08.003

CHOO TM, VIGIER B, HO KM, CECCARELLI S, GRANDO S, FRANCKOWIAK JD (2005) Comparison of black, purple, and yellow barleys. *Genet Resour Crop Evol* 52: 121-126. DOI: 10.1007/s10722-003-3086-4

COPP LGL (1965) Purple grain in hexaploid wheat. *Wheat Inf Serv* 19-20: 18.

DE PASCUAL-TERESA S, SANTOS-BUELGA C, RIVAS-GONZALO JC (2002) LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *J Sci Food Agric* 82: 1003-1006. DOI: 10.1002/jsfa.1143

ETICHA F, BERGHOFER E, GRAUSGRUBER H (2009) Utilization of barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces in the highlands of West Shewa, Ethiopia. *Plant Genet Resour* 7: 154-162. DOI: 10.1017/S1479262108123474

ETICHA F, SINEBO W, GRAUSGRUBER H (2010) On-farm diversity and characterization of barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces in the highlands of West Shewa, Ethiopia. *Ethnobot Res Appl* 8: 25-34.

FUCHS C (2015) Characterization of anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheat using HPTLC. Master thesis, Universität für Bodenkultur, Wien.

FULLER S, BECK E, SALMAN H, TAPSELL L (2016) New horizons for the study of dietary fiber and health: A review. *Plant Foods Hum Nutr* 71: 1-12. DOI: 10.1007/s11130-016-0529-6

GELETA N, ETICHA F, GRAUSGRUBER H (2009) Preservation of tetraploid wheat landraces in the West Central Highlands of Ethiopia. In: Splechna BE (ed), *Proc Int Symp Preservation of biocultural diversity – a global issue*, 6-8 May 2008, Vienna, pp 91-98. University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna.

GUPTA SC, TYAGI AK, DESHMUKH-TASKAR P, HINOJOSA M, PRASAD S, AGGARWAL BB (2014) Downregulation of tumor necrosis factor and other proinflammatory biomarkers by polyphenols. *Arch Biochem Biophys* 559: 91-99. DOI: 10.1016/j.abb.2014.06.006

HOLLMAN PCH (2014) Unravelling of the health effects of polyphenols is a complex puzzle complicated by metabolism. *Arch Biochem Biophys* 559: 100-105. DOI: 10.1016/j.abb.2014.04.013

HOSSEINIAN FS, LI W, BETA T (2008) Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat. *Food Chem* 109: 916-924. DOI: 10.1016/j.foodchem.2007.12.083

HOU Z, QIN P, REN G (2010) Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. *japonica*) on chronically alcohol-induced liver damage in rats. *J Agric Food Chem* 58: 3191-3196. DOI: 10.1021/jf904407x

HOU Z, QIN P, ZHANG Y, CUI S, REN G (2013) Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. *Food Res Int* 50: 691-697. DOI: 10.1016/j.foodres.2011.07.037

JING P, GIUSTI MM (2007) Effects of extraction conditions on improving the yield and quality of an anthocyanin-rich purple corn (*Zea mays* L.) color extract. *J Food Sci* 72: 363-368. DOI: 10.1111/j.1750-3841.2007.00441.x

JONNALAGADDA SS, HARNACK L, LIU RH, MCKEOWN N, SEAL C, LIU S, FAHEY GC (2011) Putting the whole grain puzzle together: Health benefits associated with whole grains - Summary of American Society for Nutrition 2010 Satellite Symposium. *J Nutr* 141: 1011S-1022S. DOI: 10.3945/jn.110.132944

- KIM MJ, HYUN JN, KIM JA, PARK JC, KIM MY, KIM JG, LEE SJ, CHUN SC, CHUNG IM (2007) Relationship between phenolic compounds, anthocyanins content and antioxidant activity in colored barley germplasm. *J Agric Food Chem* 55: 4802-4809. DOI: 10.1021/jf0701943
- KONCZAK I, ZHANG W (2004) Anthocyanins - More than nature's colours. *J Biomed Biotechnol* 2004: 239-240. DOI: 10.1155/S1110724304407013
- KÖRNICKE F (1885) *Die Arten und Varietäten des Getreides*. Verlag Emil Strauss, Bonn.
- LEE MJ, KIM YK, KIM MJ, HYUN JN, KIM JG, KIM HS (2010) Nutritional characteristics and properties of barley cultivars grown in Korea. In: Ceccarelli S, Grando S (eds), *Proc 10<sup>th</sup> Int Barley Genet Symp*, pp 607-612. ICARDA, Aleppo.
- LEE C, HAN D, KIM B, BAEK N, BAIK BK (2013) Antioxidant and anti-hypertensive activity of anthocyanin-rich extracts from hullless pigmented barley cultivars. *Int J Food Sci Technol* 48: 984-991. DOI: 10.1111/ijfs.12050
- LI W, BETA T (2011) Flour and bread from black-, purple-, and blue-colored wheats. In: Preedy V, Watson RR, Patel VB (Ed.), *Flour and breads and their fortification in health and disease prevention*, pp 59-67. Elsevier, Inc., Amsterdam.
- LI W, SHAN F, SUN S, CORKE H, BETA T (2005) Free radical scavenging properties and phenolic content of Chinese black-grained wheat. *J Agric Food Chem* 53: 8533-8536. DOI: 10.1021/jf051634y
- LOPEZ-MARTINEZ LX, OLIART-ROS RM, VALERIO-ALFARO G, LEE CH, PARKIN KL, GARCIA HS (2009) Antioxidant activity, phenolic compounds and anthocyanins content of eighteen strains of Mexican maize. *LWT-Food Sci Technol* 42: 1187-1192. DOI: 10.1016/j.lwt.2008.10.010
- LUNDQVIST U, FRANCKOWIAK JD, KONISHI T (1997) New and revised description of barley genes. *Barley Genet Newsl* 26: 22-516.
- MASISI K, BETA T, MOGHADASIAN MH (2016) Antioxidant properties of diverse cereal grains: A review on *in vitro* and *in vivo* studies. *Food Chem* 196: 90-97. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.09.021
- McKEVITH B (2004) Nutritional aspects of cereals. *Nutr Bull* 29: 111-142. DOI: 10.1111/j.1467-3010.2004.00418.x
- MIN B, GU L, MCCLUNG AM, BERGMAN CJ, CHEN MH (2012) Free and bound total phenolic concentrations, antioxidant capacities, and profiles of proanthocyanidins and anthocyanins in whole grain rice (*Oryza sativa* L.) of different bran colours. *Food Chem* 133: 715-722. Choose an option to locate/access this article: DOI: 10.1016/j.foodchem.2012.01.079
- PÉREZ-JIMÉNEZ J, NEVEU V, VOS F, SCALBERT A (2010) Identification of the 100 richest dietary sources of polyphenols: an application of the Phenol-Explorer database. *Eur J Clin Nutr* 64: S112-S120. DOI: 10.1038/ejcn.2010.221
- RE R, PELLEGRINI N, PROTEGGENTE A, PANNALA A, YANG M, RICE-EVANS CA (1999) Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolourization assay. *Free Radic Biol Med* 26: 1231-1237. DOI: 10.1016/S0891-5849(98)00315-3
- SALAMONE, M., DILABIO, G. A., & BIETTI, RODRÍGUEZ VM, SOENGAS P, LANDA A, ORDÁS A, REVILLA P (2013) Effects of selection for color intensity on antioxidant capacity in maize (*Zea mays* L.). *Euphytica* 193: 339-345. DOI: 10.1007/s10681-013-0924-0
- ROMANO B, PAGANO E, MONTANARO V, FORTUNATO AL, MILIC N, BORRELLI F (2013) Novel insights into the pharmacology of flavonoids. *Phytother Res* 27: 1588-1596. DOI: 10.1002/ptr.5023
- SIEBENHANDL S, GRAUSGRUBER H, PELLEGRINI N, RIO DD, FOGLIANO V, PERNICE R, BERGHOFER E (2007) Phytochemical profile of main antioxidants in different fractions of purple and blue wheat, and barley. *J Agric Food Chem* 55: 8541-8547. DOI: 10.1021/jf072021j
- SIEBENHANDL-EHN S, KINNER M, LEOPOLD LF, POPPERNITSCH MB, PRÜCKLER M, WURBS P, POISINGER S, KALAS E, BERGHOFER E, GRAUSGRUBER H (2011) Hullless barley – A rediscovered source for functional foods. Phytochemical profile and soluble dietary fibre content in naked barley varieties and their antioxidant properties. In: Rasooli I (ed), *Phytochemicals - Bioactivities and impact on health*, pp 269-294. InTech, Rijeka. DOI: 10.5772/26952
- SOMPONG R, SIEBENHANDL-EHN S, LINSBERGER-MARTIN G, BERGHOFER E (2011) Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chem* 124: 132-140. DOI: 10.1016/j.foodchem.2010.05.115
- SUN S, SUN Y, YUAN W, YAN W, PEI Z, ZHANG M, BAI Y (1999) Breeding and qualitative analysis for Black Grain Wheat 76 of superior quality. *Acta Agron Sin* 25: 50-54.
- SYED JAAFAR SN, BARON J, SIEBENHANDL-EHN S, ROSENAU T, BÖHMENDORFER S, GRAUSGRUBER H (2013) Increased anthocyanin content in purple pericarp × blue aleurone wheat crosses. *Plant Breed* 132: 546-552. DOI: 10.1111/pbr.12090
- TANAKA J, NAKANISHI T, SHIMODA H, NAKAMURA S, TSURUMA K, SHIMAZAWA M, MATSUDA H, YOSHIKAWA M, HARA H (2013) Purple rice extract and its constituents suppress endoplasmic reticulum stress-induced retinal damage *in vitro* and *in vivo*. *Life Sci* 92: 17-25. DOI: 10.1016/j.lfs.2012.10.017
- TASHI N (2005) Food preparation from hull-less barley in Tibet. In: Grando S, Gomez Macpherson H (eds), *Food barley: Importance, uses and local knowledge*, pp 115-120. ICARDA, Aleppo.
- WITTMACK L (1879) Purpurviolette Weizenkörner. *Monatsschr Ver Beförd Gartenbau preuß Staat* 1879: 79.
- YANG Y, ANDREWS MC, HU Y, WANG D, QIN Y, ZHU Y, NI H, LING W (2011) Anthocyanin extract from black rice significantly ameliorates platelet hyperactivity and hypertriglyceridemia in dyslipidemic rats induced by high fat diets. *J Agric Food Chem* 59: 6759-6764. DOI: 10.1021/jf201079h
- ZELLER FJ, CERMENO MC, MILLER TE (1991) Cytological analysis on the distribution and origin of the alien chromosome pair conferring blue aleurone colour in several European common wheat (*Triticum aestivum* L.) strains. *Theor Appl Genet* 81: 551-558. DOI: 10.1007/BF00219448
- ZEVEN AC (1991) Wheats with purple and blue grains: a review. *Euphytica* 56: 243-258. DOI: 10.1007/BF00042371
- ŽILIĆ S, SERPEN A, AKILLIOĞLU G, GÖKMEN V, VANČETOVIC J (2012) Phenolic compounds, carotenoids, anthocyanins, and antioxidant capacity of colored maize (*Zea mays* L.) kernels. *J Agric Food Chem* 60: 1224-1231. DOI: 10.1021/jf204367z



## Sequence variability in genes involved in biosynthetic pathway of anthocyanins in wheat

Klára ŠTIASNA\*, Mária PRESINSZKÁ\*, Tomáš VYHNÁNEK\*, Václav TROJAN\*,  
Eva MRKVICOVÁ<sup>§</sup>, Luděk HŘIVNA<sup>‡</sup>, Pavel HANÁČEK, Ladislav HAVEL

\* Department of Plant Biology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>§</sup> Department of Animal Nutrition and Forage Production, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>‡</sup> Department of Food Technology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

(✉) klara.stiasna@mendelu.cz

**Abstract** Anthocyanins are water soluble, natural pigments responsible for the colouration of various plant parts and organs (e.g. flowers, seeds, leaves, coleoptiles). Anthocyanins are strong natural antioxidants and, therefore, can have beneficial effects on human health. Food products made of wheat (*Triticum aestivum* L.) with uncommon coloured caryopses (e.g. blue aleurone, purple pericarp) became recently popular: a wide range of bakery products, pasta and beverages was already produced from coloured wheat for research and commercial purposes. Anthocyanins, as well as other flavonoids, are synthesized by the phenylpropanoid metabolic pathway from the amino acid phenylalanine in several steps. Involved enzymes are in early biosynthesis chalcone synthase (CHS), chalcone isomerase (CHI) and flavanone 3-hydroxylase (F3H), and in late stages of biosynthesis dihydroflavanol 4-reductase (DFR) and anthocyanidin synthase (ANS). Each enzyme is encoded by a specific gene. In the present study, sequence analysis of these genes was performed using five wheat genotypes (i.e. 'Abissinskaya Arraseita' (AA) and ANK 28-B (ANK) with purple pericarp, 'Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen' (TBS) and 'UC66049' (UC) with blue aleurone, and 'Novosibirskaya 67' (N67) with white caryopsis. Total genomic DNA was isolated from leaves of 5-7 days old wheat plantlets. Either direct sequencing of PCR (polymerase chain reaction) product or gene cloning using plasmid vector in *Escherichia coli* (in case of CHS) was used to gain gene sequences. Multiple sequence alignment showed several single nucleotide polymorphisms (SNPs) between genotypes, even between different clones of the same genotype. Similarity of aligned sequences ranged from 92.3 to 100%. CHS expression was monitored based on the colour development of the caryopses during their maturation. Caryopses were collected every five days beginning 10 days after anthesis until 40 days after anthesis. At the latter stage the wheat spikes were already fully ripe. Extracted total RNA

was reverse transcribed to the complementary DNA and relative gene expression was determined. Highest gene expression was observed 15 days after anthesis in TBS, whereas the other genotypes showed significant lower expressions across the investigation period. CHI sequences were obtained by direct sequencing of PCR products. Few single nucleotides and one five nucleotide indel were observed. Similarity of aligned sequences was very high, ranging from 99.7 to 100%. In purple pericarp genotypes, CHI expression first decreased and then increased, whereas blue aleurone genotypes showed first increasing and then decreasing expression. The gene expression in white coloured genotype N67 was low during the whole period of grain development. F3H primers were genome specific, i.e. were amplified products specific for wheat genomes A, B and D. In the B genome of UC a mutation was observed which caused the presence of a stop codon and, therefore, shorter polypeptide. DFR sequences showed several SNPs and 98 to 99% similarity. In the future, gene expression of F3H and DFR will be studied along with ANS sequence analysis.

**Acknowledgements** The authors thank Ing. Petr Martinek, CSc., for providing the plant material and employees of the Botanical garden and arboretum of Mendel University in Brno. This work was supported by IGA FA MENDELU No. TP 4/2015

**Keywords** Anthocyanin · antioxidant · gene expression · *Triticum aestivum*

### Further reading

HIMI E, MAEKAWA M, NODA K (2011) Differential expression of three flavanone 3-hydroxylase genes. *Int J Plant Genomics* 2011: 369460. DOI: 10.1155/2011/369460

KHLESTKINA EK, DOBROVOLSKAYA OB, LEONOVA IN, SALINA EA (2013) Diversification of the duplicated F3h genes in *Triticeae*. *J Mol Evol* 76: 261-266. DOI: 10.1007/s00239-013-9554-3

TROJAN V, MUSILOVÁ M, VYHNÁNEK V, KLEJDUS B, HANÁČEK P, HAVEL L (2014) Chalcone synthase expression and pigments deposition in wheat with purple and blue colored caryopsis. *J Cereal Sci* 59: 48-55. DOI: 10.1016/j.jcs.2013.10.008



## DNA analysis using molecular markers in coloured wheat

Mária PRESINSZKÁ\*, Klára ŠTIASNA\*, Tomáš VYHNÁNEK\*, Václav TROJAN\*,  
Eva MRKVICOVÁ<sup>§</sup>, Luděk HŘIVNA<sup>‡</sup>, Ladislav HAVEL\*

\* Department of Plant Biology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>§</sup> Department of Animal Nutrition and Forage Production, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>‡</sup> Department of Food Technology, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

(✉) maria.presinszka@mendelu.cz

**Abstract** Grain texture is a main determinant of end-use quality of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) and influences milling, baking and noodle making. Wheat grain texture is mainly determined by the hardness (*Ha*) locus consisting of puroindoline a (*Pina*) and puroindoline b (*Pinb*) genes. The wheat endosperm consists mainly of starch (amylose and amylopectin) and proteins. Amylose is catalyzed by the GBSS (granule-bound starch synthase) enzyme, also called waxy gene. In hexaploid wheat, waxy proteins are encoded by the waxy genes *Wx-A1*, *Wx-B1* and *Wx-D1*. The biggest fragment belongs to the D genome (299 bp), the intermediate to the A genome (257 bp) and the smallest to the B genome (227 bp). Gliadins and glutenins are the main wheat gluten proteins. According to mobility in sodium dodecyl sulfate polyacrylamide gel electrophoresis (SDS-PAGE) glutenins are divided into low molecular weight (LMW) and high molecular weight (HMW) glutenin subunits.

A collection of 25 wheat genotypes with different caryopsis and/or endosperm colour (blue aleurone, purple pericarp, white and yellow endosperm) was studied in the present experiment. Genomic DNA was isolated from caryopses using DNeasy Plant Mini Kit (Qiagen, Germany). Puroindoline genes *Pina* and *Pinb* (alleles *Pina-D1a*, *Pina-D1b*, *Pinb-D1a*, *Pinb-D1b*, *Pinb-D1c* and *Pinb-D1d*), waxy genes and *Glu-A3* LMW glutenin were analyzed by polymerase chain reaction (PCR). The following LMW glutenin check varieties were used: 'Chinese Spring' (*Glu-A3a*), 'Gabo' (*Glu-A3b*), 'Gawain' (*Glu-A3c*), 'Abbondanza' (*Glu-A3d*), 'Liocorno' (*Glu-A3e*), 'Apostle' (*Glu-A3f*) and 'Glenlea' (*Glu-A3g*). Puroindoline genes were analyzed using nine markers for *Pina* and four markers for *Pinb*.

Results showed that for *Pina* only one allele (*i.e.* *Pina-D1a*) was amplified, whereas for *Pinb* three alleles (*i.e.* *Pinb-D1a*, *Pinb-D1b*, *Pinb-D1d*) were detected. Genotypes 'Novosibirskaya 67', ANK-28A and ANK-28B had an unknown PCR product, which was caused by a mutation in the locus. The

null allele of *Wx-B1* was found in five genotypes (*i.e.* 'Konini', TA4024, 'Tschermaks Blaukörniger Sommerweizen', 'Tschermaks Blaukörniger', 'Barevná 9'). PCR products for *Wx-A1* and *Wx-D1* were amplified in all studied genotypes. With respect to LMW glutenin three alleles were detected (*i.e.* *Glu-A3c*, *Glu-A3d*, *Glu-A3f*). The most frequent allele was *Glu-A3f*. In four genotypes two alleles were identified indicating that these genotypes were either mixed or heterogeneous. No PCR product was detected in the blue aleurone wheats 'Tschermaks Blaukörniger' and 'Skorpion'.

**Acknowledgements** The authors thank Ing. Petr Martinek, CSc. (Agrotest fyto Ltd. Kroměříž) and Ing. Jana Bradová (CRI Prague) for providing the experimental material. This work was supported by IGA FA MENDELU No. TP 4/2015.

**Keywords** Anthocyanin · grain hardness · gluten protein · molecular marker · *Triticum aestivum* · waxy starch

### Further reading

HUANG XQ, BRŮLÉ-BABEL A (2011) Development of simple and co-dominant PCR markers to genotype puroindoline a and b alleles for grain hardness in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Cereal Sci* 53: 277-284. DOI: 10.1016/j.jcs.2011.01.008

McLAUCHLAN A, OGBONNAYA FC, HOLLINGSWORTH B, CARTER M, GALE KR, HENRY RJ *et al.* (2001) Development of robust PCR-based DNA markers for each homoeo-allele of granule-bound starch synthase and their application in wheat breeding programs. *Aust J Agric Res* 52: 1409-1416. DOI: 10.1071/AR01036

PRESINSZKÁ M, ŠTIASNA K, VYHNÁNEK T, TROJAN V, MRKVICOVÁ E, HŘIVNA L, HAVEL L (2016) Identification of alleles for puroindoline genes and their effect on grain texture in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Food Technol Biotechnol* 54, in press. DOI: 10.17113/ftb.54.01.16.4119

WANG L, LI G, PEÑA RJ, XIA X, HE Z (2010) Development of STS markers and establishment of multiplex PCR for *Glu-A3* alleles in common wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Cereal Sci* 51: 305-312. DOI: 10.1016/j.jcs.2010.01.005

ZHANG W, GIANIBELLI MC, RAMPLING LR, GALE KR, 2004: Characterisation and marker development for low molecular weight glutenin genes from *Glu-A3* alleles of bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 108: 1409-1419. DOI: 10.1007/s00122-003-1558-8



## Cadmium in Durum

### *Cadmium in durum wheat*

Julia LAFFERTY\*, Simone ZIMMERL<sup>§</sup>

\* Saatzucht Donau, Saatzuchtstraße 11, 2301 Probstdorf, Österreich

<sup>§</sup> Universität für Bodenkultur Wien, Department IFA-Tulln, Konrad Lorenz Str. 20, 3430 Tulln, Österreich

(✉) julia.lafferty@saatzucht-donau.at

**Abstract** Durum is a tetraploid wheat used almost exclusively for human consumption, in most cases in form of pasta products. Cadmium is a toxic heavy metal occurring naturally and through human activities in soil. Under favorable circumstances, durum wheat can accumulate Cd in quantities well above the EU-threshold of 0.1 mg/kg. Therefore, pasta producers require regular monitoring of semolina for Cd. A major gene controlling Cd uptake has been described in durum and molecular markers are available for this gene. An overview is given of the allele constitution for this gene in most European durum lines and varieties.

**Keywords** Food safety · heavy metal contamination · molecular marker · pasta · *Triticum durum*

#### Einleitung

Cadmium (Cd) ist ein toxisches Schwermetall. Gewonnen wird Cd als ein Nebenprodukt der Zn-, Pb- und Cu-Gewinnung. Reines Cd gibt es in der Natur so gut wie gar nicht. Cd wird vom Menschen hauptsächlich über die Nahrung und Rauch aufgenommen (Raucher haben höhere Cd-Werte in Blut und Niere). Aufgenommenes Cd hat im Körper eine lange Halbwertszeit, der Cd-Gehalt steigt im Laufe des Lebens an. Bei Fe- und Ca-Mangel wird Cd leichter aufgenommen, da die gleichen Transportwege genutzt werden. Durch langsame Anreicherung kann es zu einer chronischen Vergiftung kommen, die allerdings sehr schwer nachzuweisen ist. Weiters kommt es zu Schäden der Niere und Knochen durch Ca-Abbau. Die maximal empfohlene wöchentliche Aufnahme von Cd wurde 2009 von 7 µg/kg auf 2,5 µg/kg gesenkt, ebenso der Grenzwert für Getreide 2012 von 2 auf 1 mg/kg.

Aufgrund der hohen Toxizität wird versucht, die Verwendung und Verbreitung von Cd zu vermindern. Einsatzgebiete umfassen u.a. Ni-Cd-Akkus, gelbe Farben und Legierungen. Cd aus Feldfrüchten ist die Hauptaufnahmequelle für Menschen. Im Boden kommt Cd aus natürlichen Quellen und durch menschlichen Eintrag vor. Die meisten Phosphatlagerstätten enthalten auch Cd, so dass Kunstdünger meist mehr oder weniger Cd enthält. In manchen Ländern gibt es daher Grenzwerte für Cd im Dünger. Auch das Ausbringen von Klärschlamm trägt zur Anreicherung von Cd im Boden bei.

Durum (*Triticum durum*) ist ein tetraploider Weizen, der fast ausschließlich für die menschliche Ernährung verwendet wird. Das traditionelle Anbaugebiet ist rund um das Mittelmeer, im Nahen Osten und bis nach Indien. Derzeit wird Durum in Europa, Asien, Amerika und Australien angebaut. Man kann verschiedene Anbauformen unterscheiden. Am weitesten verbreitet ist der Anbau im Herbst zur optimalen Ausnutzung der Winterfeuchte, wobei die verwendeten Sorten keine oder nur wenige Winterhärte besitzen. In Regionen mit ausgeprägterem Winter wird der Durum im Frühjahr (Mitteleuropa, Nordamerika) angebaut oder es werden im Herbst echte Winterdurum angebaut. Die Winterhärte der Winterdurum basiert auf Einkreuzungen von Winterweizen.

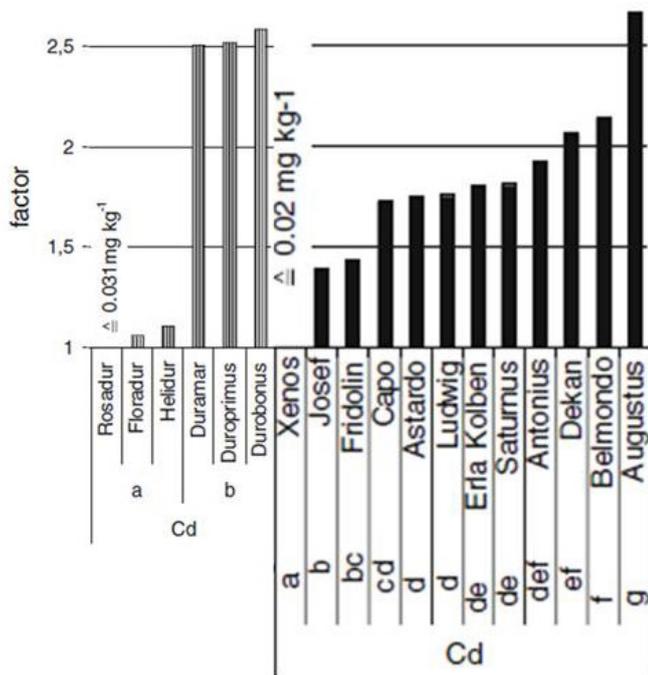
Auf Cd-belasteten Böden kann Durum unter bestimmten Umständen Cd-Mengen im Korn einlagern, die den Grenzwert überschreiten. Die Cd-Aufnahme wird positiv beeinflusst durch niedrigen pH-Wert, niedrigen Humusgehalt, Zn-Mangel im Boden, die Verwendung von Dünger mit hohem Cd-Gehalt und Chlorid im Bewässerungswasser. Zu den Maßnahmen, die die Cd-Aufnahme bremsen gehören dementsprechend die Verwendung von Dünger mit niedrigem Cd-Gehalt, Kalkung zur pH-Regulierung, Maßnahmen die den Anteil organischer Substanz im Boden erhöhen und eben auch die Auswahl der geeigneten Sorte. Zn-Mangel im Boden wird in manchen Fällen als ein Einfluss auf den Cd-Gehalt in der Pflanze angegeben (CSIRO 1999). Es gibt aber Studien, wo ein gezieltes Düngen mit ZnSO<sub>4</sub> die Cd-Aufnahme weder positiv noch negativ beeinflusst hat (WANG *et al.* 2011).

CLARKE *et al.* (1997) zeigten, daß es einen *major locus* gibt, *Cdu-1*, der entscheidet ob es sich um eine hoch Cd-aufnehmenden Durum-Sorte handelt oder nicht. Dieser Locus liegt auf Chromosom 5B. In einem Versuch wurde gezeigt, daß 80% der Variation des Cd-Gehaltes im Korn damit erklärt werden konnte, ob die Pflanze das Allel für hohe oder niedrige Cd-Aufnahme besaß.

Im Vergleich dazu wird beim Brotweizen die Cd-Aufnahme scheinbar von mehreren Loci kontrolliert und es gibt nicht so ein schwarz-weiß Ergebnis wie bei Durum (SPIEGEL *et al.* 2009; Abbildung 1).

In der Arbeit von HARRIS & TAYLOR (2013) wurde gezeigt, dass die niedrig und hoch aufnehmenden Durum bezogen auf die Gesamtbioasse die gleiche Menge Cd aufnehmen. Der wesentliche Unterschied ist die Umlagerung von den Wurzeln in die oberirdischen Pflanzenteile und insbesondere ins Korn. Hoचाufnehmende Linien haben um den Faktor 2-2,5 mehr Cd im Korn als niedrig aufnehmende Linien. Für *Cdu-1* gibt es verschiedene Marker (ZIMMERL *et al.* 2014). In einer Arbeit der Universität Hohenheim

wurde der Einfluß von *Cdu-1* auf die Cd-Aufnahme gezeigt, aber auch dass es einen großen Jahres und Umwelteinfluss gibt (ANDERS 2012; Tabelle 1).



**Abbildung 1:** Cd-Belastung in Weich- und Durumweizen (modifiziert nach SPIEGEL et al. (2009))

**Figure 1:** Cadmium contamination in soft and durum wheat (modified after SPIEGEL et al. (2009))

## Material und Methoden

Im Rahmen einer Bachelorarbeit am IFA-Tulln wurden eine Reihe von, meist europäischen, Sorten, Genbankmaterial und das Zuchtmaterial der Saatzucht Donau mit dem CAPS-Marker *Usw47* untersucht. Eine detaillierte Beschreibung des Materials und der Methodik ist in ZIMMERL et al. (2014) enthalten.

## Ergebnisse und Diskussion

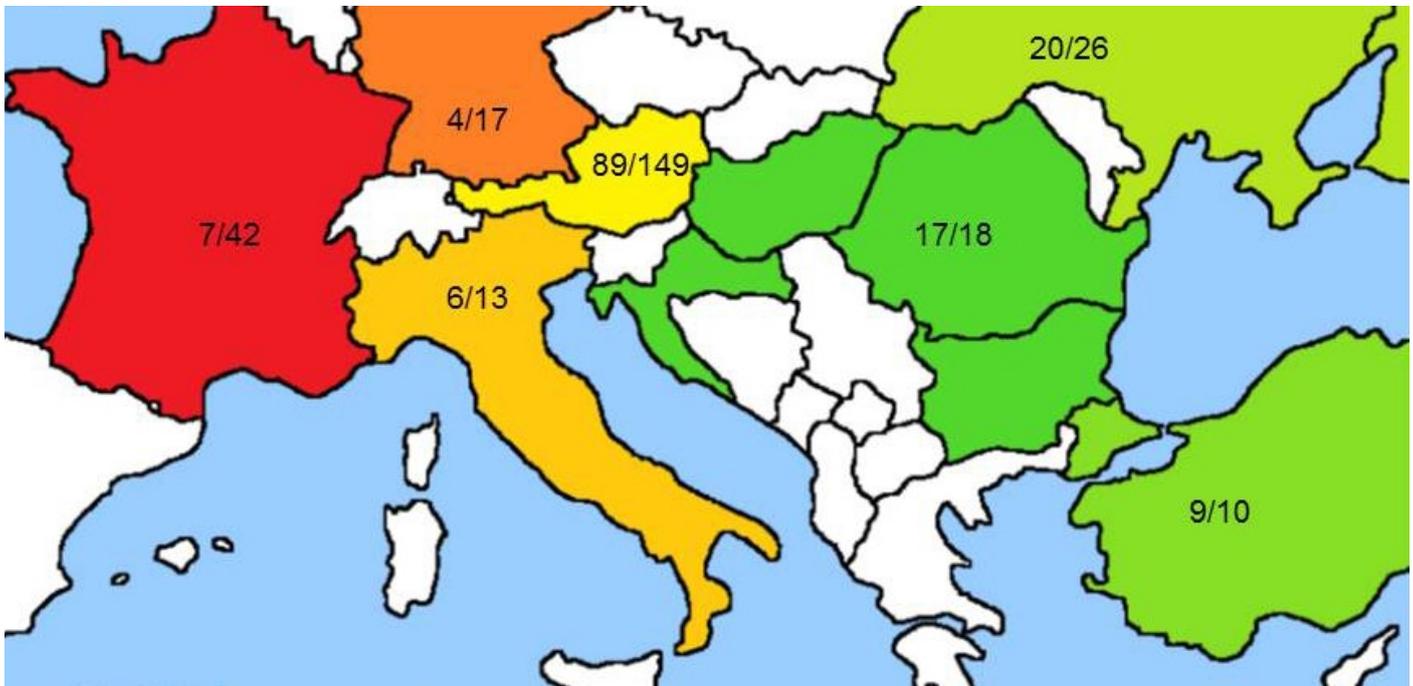
Gesamt betrachtet waren 54% der untersuchten Durum niedrig aufnehmend und 44 % hoch aufnehmend. Das entspricht ungefähr dem was man erwarten kann, wenn das Merkmal in der Züchtung nicht berücksichtigt wird und mit keinerlei negativen oder positiven Eigenschaften gekoppelt ist. Bei drei ebenfalls untersuchten *T. dicoccoides* Akzessionen wurden beide Allele gefunden, was darauf hinweist, dass die Allele bereits vor der Domestizierung des Weizens existierten. Wurden die Durum nach Herkunft getrennt betrachtet, ließ sich ein leichtes West-Ost-Gefälle beobachten, je weiter nach Osten, desto höher der Anteil an niedrig aufnehmenden Sorten. Dabei muss man aber berücksichtigen, dass zum Teil nur wenige Sorten pro Land untersucht wurden (Abbildung 2). Unterscheidet man die untersuchten Durum nach Winter- und Sommertypen, so fällt auf, dass von den Winterdurum ein wesentlich höherer Anteil niedrig-aufnehmend ist (Abbildung 3). Das ist auch der Grund für das in Abbildung 2 beobachtete Ost-West-Gefälle – je weiter man nach Osten kommt, desto mehr wird Winterdurum angebaut. Eventuell handelt es sich um ein Erbe aus dem Weichweizen oder es liegt daran, dass Winterdurum eine recht enge genetische Basis hat. Die Grundlage für die Winterhärte ist in fast allen Fällen die Einkreuzung von winterhartem Weizen in Sommerdurum aus der Mitte des 20. Jahrhunderts in der Sowjetunion.

Das Gen für niedrige Cd-Aufnahme scheint nicht mit negativen Eigenschaften gekoppelt zu sein. Die zwei zurzeit größten Durumsorten in Frankreich haben jeweils 25% der Vermehrungsfläche. Die eine ist hoch-, die andere ist niedrigaufnehmend.

**Tabelle 1:** Cd-Gehalte verschiedener Durum-Sorten an verschiedenen Standorten und ihre Allelausprägung (modifiziert nach ANDERS 2012)

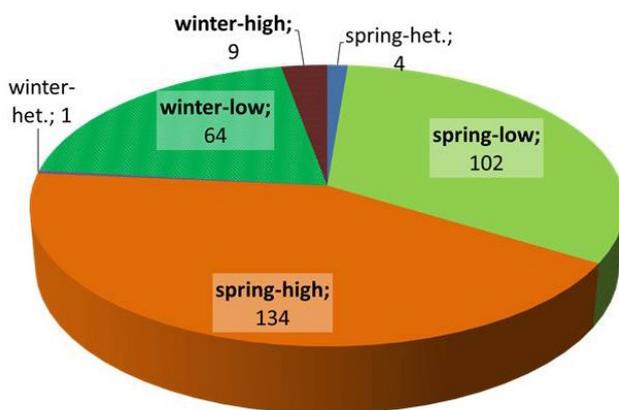
**Table 1:** Cadmium content of durum varieties at different locations and their *Cdu-1* allele (modified after ANDERS et al. (2012))

Cultivar	Experiment						Mean	Marker Allele
	EKW08	PE1508	PE3008	EKW09	PE1509	PE3009		
ACS-54720	0,07	0,07	0,06	0,07	0,07	0,05	0,07	low
Floradur	0,07	0,06	0,08	0,07	0,06	0,07	0,07	low
Rosadur	0,09	0,06	0,06	0,08	0,08	0,06	0,07	low
Calladur	0,09	0,06	0,08	0,08	0,08	0,07	0,08	low
ACS-55711	0,09	0,09	0,07	0,07	0,08	0,09	0,08	low
Strongfield	0,16	0,09	0,1	0,14	0,1	0,08	0,11	low
Duroflavus	0,11	0,09	0,1	0,21	0,21	0,17	0,15	low
Wimadur	0,23	0,16	0,22	0,19	0,19	0,17	0,19	high
Duramar	0,27	0,14	0,16	0,19	0,15	0,24	0,19	high
Durabon	0,18	0,19	0,22	0,19	0,2	0,16	0,19	high
Orjaune	0,19	0,16	0,18	0,17	0,21	0,17	0,18	high
Joyau	0,35	0,17	0,17	0,22	0,19	0,14	0,21	high
Kombo	0,25	0,2	0,23	0,25	0,24	0,17	0,22	high
Hallmark	0,29	0,21	0,32	0,22	0,25	0,19	0,25	high
Karur	0,42	0,18	0,22	0,25	0,21	0,2	0,25	high
Navigator	0,41	0,29	0,27	0,26	0,23	0,21	0,28	high



**Abbildung 2:** Anteil niedrigaufnehmender Durum an den gesamt untersuchten Durumsorten/-linien pro Land/Gebiet

**Figure 2:** Number of low Cd-uptake durum wheat varieties of the total investigated number of durum wheat genotypes per country



**Abbildung 3:** Untersuchte Durum Genotypen getrennt nach Sommer- und Winterformen.

**Figure 3:** Investigated durum wheat nursery divided into spring and winter growth types.

### Schlussfolgerungen

Was sind nun die Möglichkeiten, den Cd-Gehalt im Durum niedrig zu halten? Von der landwirtschaftlichen Seite liegt eine Möglichkeit im Management. Dazu gehören Maßnahmen, die den Humusgehalt erhöhen, Kalkdüngung um den pH-Wert zu regeln, einen Dünger mit wenig Cd verwenden. Zum anderen sollte man eine Sorte zu wählen, die niedrig Cd aufnehmend ist. In der Züchtung haben wir das Glück mit einem Hauptgen zu arbeiten, für das ein guter und anwendungsfreundlicher molekularer Marker zur Verfügung steht. Zusammen mit der Tatsache, daß hohe Cd-Aufnahme ein lokal kleinräumiges Problem ist, sollte uns nicht der Appetit auf Durumteigwaren vergehen.

### Literatur

- ANDERS N (2012) Genetische Variabilität von Mineralstoffgehalten bei Hartweizen und Einkorn in verschiedenen Umwelten. Diplomarbeit, Universität Hohenheim.
- CLARKE JM, LEISLE D, KOPYTKO GL (1997) Inheritance of cadmium concentration in five durum wheat crosses. *Crop Sci* 37: 1722-1726. DOI: 10.2135/cropsci1997.0011183X003700060008x
- CSIRO (1999) Managing cadmium in potatoes for quality produce, 2nd ed. Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO) Land and Water, Dickson, ACT. [[http://www.cadmium-management.org.au/documents/Managing\\_Cd\\_in\\_potatoes\\_brochure.pdf](http://www.cadmium-management.org.au/documents/Managing_Cd_in_potatoes_brochure.pdf); accessed 7 Mar 2016]
- HARRIS NS, TAYLOR GJ (2013) Cadmium uptake and partitioning in durum wheat during grain filling. *BMC Plant Biol* 13: 103. DOI: 10.1186/1471-2229-13-103
- SPIEGEL H, SAGER M, OBERFORSTER M, MECHTLER K, STÜGER HP, BAUMGARTEN A (2009) Nutritionally relevant elements in staple foods: Influence of arable site versus choice of variety. *Env Geochem Health* 31: 549-60. DOI: 10.1007/s10653-009-9254-5
- WANG G, OTTMAN M, CHANEY RL (2011) Effects of Zn fertilizer on cadmium accumulation in durum wheat. 2011 Forage & Grain Report, pp 58-64. *Coll Agric Life Sci, Univ Arizona, Tucson, AZ*. [<http://extension.arizona.edu/sites/extension.arizona.edu/files/pubs/az1559g.pdf>; accessed 7 Mar 2016]
- ZIMMERL S, LAFFERTY J, BUERSTMAYR H (2014) Assessing diversity in Triticum durum cultivars and breeding lines for high versus low cadmium content in seeds using the CAPS marker usw47. *Plant Breed* 133: 712-717. DOI: 10.1111/pbr.122181



## Genetic analysis of falling number stability in wheat

Theresa ALBRECHT\*, Volker MOHLER\*, Michael OBERFORSTER<sup>§</sup>, Lorenz HARTL\*

\* Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 6, 85354 Freising, Germany

<sup>§</sup> Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Spargelfeldstr. 191, 1220 Wien, Austria

(✉) [theresa.albrecht@lfl.bayern.de](mailto:theresa.albrecht@lfl.bayern.de)

**Abstract** Preharvest sprouting (PHS) describes the germination of mature seeds before harvest. During germination,  $\alpha$ -amylases degrade starch which leads to reduced falling numbers, an important economic trait concerning dough quality of wheat. The extent of PHS is highly dependent on environmental conditions and without PHS inducing weather conditions, the stability of falling numbers of wheat cultivars cannot be assessed. In addition to the traits germination index, sprouting of intact ears and falling number, a test has been developed to determine falling number stability under controlled conditions. For this, the kernels are stored at room temperature (after-ripening) until wetting to induce a decrease of falling numbers. The depletion of dormancy before harvest and hence, the duration of after-ripening, was influenced amongst others by the temperature sum reached since seeding date.

Within the project *NoSprout*, six biparental populations were analysed for the described traits and each population was genotyped with a sufficient number of markers. The population Kometus/Fakir was phenotyped at four locations (Feldkirchen, Söllingen, Hadmersleben, Fuchsenbigl) in the cropping season 2013/2014 and showed an appropriate differentiation for the traits. Heritabilities were 0.46 for falling number at harvest-ripeness, 0.87 for falling number stability, 0.74 for sprouting of intact ears, and 0.75 for germination index. High correlations ( $r=0.81-0.86$ ) between the latter three traits were observed.

In Kometus/Fakir, similar quantitative trait loci (QTL) for sprouting of intact ears and germination index were detected on chromosomes 2B, 4A, and 5B. For the QTL on chromosome 4A, up to 92% of the phenotypic variation for sprouting of intact ears was explained in Söllingen. In the same marker interval on chromosome 4A, a QTL for falling number was detected explaining 1-12% of the phenotypic variance. The effect of this QTL could be emphasized when falling number stability was considered. A QTL on chromosome 4AL has been described previously as *Phs1* and the interval matched the detected QTL in Kometus/Fakir.

Furthermore, two candidate genes PM19-A1 and PM19-A2 for this major dormancy QTL have been identified. However, the parental varieties 'Kometus' and 'Fakir' carried the same allele at both candidate genes. Two segregating markers in this region showed a clear separation of PHS tolerant and susceptible genotypes in the population as well as in a diversity panel of 124 winter wheat cultivars.

Overall, we detected nine QTL in at least two of the analysed populations and ten QTL were overlapping between association and QTL mapping projects. Of these, five QTL were in concordance over populations and projects. For some of these QTL, marker assays for a low-density SNP platform were developed. In the ongoing project *AmyCtrl*, these markers will be validated in wheat breeding materials. Their predictive ability will be compared to a genome-wide prediction method for PHS tolerance and falling number stability.

**Acknowledgements** We thank the breeding companies Lantmännern SW Seed GmbH, Limagrain GmbH, Saat-zucht Edelhof, Secobra Saat-zucht GmbH, Strube GmbH & Co. KG for providing materials and conducting field trials. Technical assistance provided by Department of Quality Assurance and Analytics and working group Wheat and Oat Breeding Research of the Bavarian State Research Center for Agriculture is gratefully acknowledged. Die Projekte „Validation of molecular selection methods for improvement of preharvest sprouting tolerance in winter wheat breeding material“ (*NoSprout*, CORNET Projekt 834766; IGF-Vorhaben 75 EN/1) und „Marker-based selection for controlling preharvest sprouting due to untimely  $\alpha$ -amylase activity in wheat“ (*AmyCtrl*, CORNET Projekt 844040; IGF-Vorhaben 123 EN/1) der Forschungsvereinigung Gemeinschaft zur Förderung der Pflanzeninnovationen e.V. (GFPI) wurden über die AiF im Rahmen des Programms zur Förderung der Industriellen Gemeinschaftsforschung und -entwicklung (IGF) vom Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie aufgrund eines Beschlusses des Deutschen Bundestages und von der FFG ([www.ffg.at](http://www.ffg.at)) und der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs gefördert.

**Keywords** Baking quality · molecular marker · pre-harvest sprouting · QTL · starch degradation · *Triticum aestivum*

## Further reading

ALBRECHT T, OBERFORSTER M, KEMPF H, RAMGRABER L, SCHACHT J, KAZMAN E, ZECHNER E, NEUMEYER A, HARTL L, MOHLER V (2015) Genome-wide association mapping of preharvest sprouting resistance in a diversity panel of European winter wheats. *J Appl Genet* 56: 277-285. DOI: 10.1007/s13353-015-0286-5

BARRERO JM, CAVANAGH C, VERBYLA KL, TIBBITS JFG, VERBYLA AP, HUANG BE, ROSEWARNE GM, STEPHEN S, WANG P, WHAN A, RIGAULT P, HAYDEN MJ, GUBLER F (2015) Transcriptomic analysis of wheat near-isogenic lines identifies PM19-A1 and A2 as candidates for a major dormancy QTL. *Genome Biol* 16: 93. DOI: 10.1186/s13059-015-0665-6

CABRAL AL, JORDAN MC, MCCARTNEY CA, YOU FM, HUMPHREYS DG, MACLACHLAN R, POZNIAK CJ (2014) Identification of candidate genes, regions and markers for pre-harvest sprouting resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). *BMC Plant Biol* 14: 340. DOI: 10.1186/s12870-014-0340-1

HAGBERG S (1961) Simplified method for determining  $\alpha$ -amylase activity. *Cereal Chem* 38: 202-203.

KULWAL P, ISHIKAWA G, BENSCHER D, FENG Z, YU LX, JADHAY A, MEHETRE S, SORRELLS ME (2012) Association mapping for pre-harvest sprouting resistance in white winter wheat. *Theor Appl Genet* 125: 793-805. DOI: 10.1007/s00122-012-1872-0

## Beziehung von Auswuchs, Keimungsindex und Fallzahlstabilität zur Fallzahl unter Belastungsbedingungen bei Winterweizen

### *Relationship of sprouting, germination index and falling number stability to the falling number under stress conditions for winter wheat*

Michael OBERFORSTER\*, Edit KALMAR\*, Elisabeth ZECHNER<sup>§</sup>, Theresa ALBRECHT<sup>‡</sup>, Lorenz HARTL<sup>‡</sup>

\* Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien, Österreich

<sup>§</sup> Saatzucht LFS Edelhof, Edelhof 1, 3910 Zwettl, Österreich

<sup>‡</sup> Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, 85354 Freising, Deutschland

(✉) michael.oberforster@ages.at

**Abstract** The aim of this study was to examine the relationship between several traits with respect to pre-harvest sprouting in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). In 2013/14 the progenies of eight winter wheat crosses were grown in Austrian field trials. The parents of these populations (Kometus/Fakir, Hermann/Skalmeje, History/Rubens, BAUB469511/Format) contrasted in terms of pre-harvest sprouting resistance and falling number (HFN) stability. In 2014/15 experiments with current breeding lines of German and Austrian wheat breeders were carried out. The following parameters were determined: sprouting of intact spikes in a rain simulation chamber, germination index of grains harvested at ripening, HFN with a test based on four to six weeks of after-ripening and 24 or 30 h wetting of grains, HFN of samples from irrigated plots or after late harvest. HFN stability test showed sometimes remarkable differences between breeding lines. Based on the results, however, sprouting resistance could not be described more precisely by HFN measured on irrigated or late-harvested plots than by other laboratory methods. The populations of the project NoSprout correlated with  $r=0.087-0.488^{**}$ ; the nursery of project AmyCtrl with  $r=0.460^{**}$  and  $0.311^{**}$ , respectively. The non-significant correlations are due to unequal seed dormancy of the different methods, too low or too high wetting and the resulting inadequate differentiation of HFN values under field conditions.

**Keywords** Falling number · preharvest sprouting · starch degradation · *Triticum aestivum*

#### Einleitung

Auswuchs (PHS, *preharvest sprouting*), das vorzeitige Keimen der Körner am Halm, bedeutet eine Qualitätsminderung bei Saat-, Mälz- und Mahlgetreide. In Österreich gab es in den Jahren 2005, 2006 und 2008 sowie abgeschwächt 2013 und 2014 Auswuchsschäden und reduzierte Fallzahlen bei Weizen. In Deutschland waren die Weizenernten 2005, 2006, 2010 und 2011 vielfach davon betroffen. Eine regnerische Witterung in Verbindung mit geringer Korndormanz (Keimruhe) ist vorrangig dafür verantwortlich.

#### Material und Methoden

##### *Pflanzenmaterial und Umwelten*

Die im Rahmen der CORNET Projekte *NoSprout* und *AmyCtrl* durchgeführten Weizenversuche standen in Fuchsenbigl (Bez. Gänserndorf), Grabenegg (Bez. Melk) und Zwettl (Bez. Zwettl). Sie waren in einem *augmented design* (einfache Wiederholung, 5-10 Standardsorten) konzipiert, die Parzellengröße variierte von 1,25 bis 3,0 m<sup>2</sup>. Im Jahr 2013/14 wurden Nachkommenschaften der Kreuzungspopulationen Kometus/Fakir, Hermann/Skalmeje, History/Rubens und BAUB469511/Format geprüft; in der Saison 2014/15 waren es die Sorten 'Colonia', 'JB Asano' und 'Julius' sowie Zuchtstämme deutscher und österreichischer Weizenzüchter (Tabelle 1).

##### *Untersuchungsmerkmale*

**Auswuchs intakter Ähren:** Auf Gitterrosten platzierte Ähren wurden in der Feuchtkammer einer Temperatur von 20±2°C und einer nahezu wassergesättigten Atmosphäre ausgesetzt. Die Anzahl von Wurzel- und Blattkeimen resultiert in Noten von 1 (kein Auswuchs) bis 9 (sehr starker Auswuchs, Abbildung 1). Die erste Bonitur erfolgte nach 6 bis 10 Tagen, eine weitere 2 bis 4 Tage später. In die Auswertung ging der Mittelwert ein.

**Keimungsindex:** Von zur Gelb- bis Vollreife geschnittenen Ähren wurden 200 Körner bei 20±2°C in feuchtes Filterpapier eingelegt. Die am 4., 5. und 6. Tag gekeimten Körner dienten nach der bei WALKER-SIMMONS (1987) beschriebenen Formel zur Berechnung

eines gewichteten Keimungsindex. Dieser kann einen Wert von 0 (absolute Dormanz) bis 0,5 (sämtliche Körner keimten am 4. Tag) erreichen.

**Fallzahl-Stabilitätstest:** Von zur Gelb- bis Vollreife geschnittenen Ähren wurden 33 g Kornproben einer 5- bis 6-wöchigen Nachreife bei Raumtemperatur unterzogen, anschließend mit 16,5 mL Wasser in Petrischalen 24 bzw. 30 h befeuchtet, 36 h bei 40°C getrocknet und die Fallzahl (HAGBERG 1960) gemäß ICC-Standard Nr. 107/1 bestimmt. Es ist dies eine von SCHACHSCHNEIDER & HEINZE (2009, 2010) entwickelte, jedoch modifizierte Methode.

**Fallzahl von Feldproben:** Nach zeitweiliger Beregnung der Versuche vom 16. bis 29. Juli 2014 (Fuchsenbigl, 9 Termine), 21. bis 29. Juli 2014 (Grabenegg, 6 Termine), 17. bis 27. Juli 2015 (Fuchsenbigl, 7 Termine) oder Überständigkeit (Zwettl) erfolgten der Drusch und die Fallzahlanalyse.

#### Statistische Auswertung

Die erhobenen Rohdaten wurden anhand der wiederholten Standards um die Blockeffekte mithilfe des Pakets *lsmeans* in R adjustiert (LENTH & HERVÉ 2015). Die Korrelationen wurden mit SPSS Vers. 22 (IBM SPSS Statistics) berechnet.

#### Ergebnisse und Diskussion

Auswuchs zieht eine Herabstufung der Weizenqualität, eingeschränkte Verwertungsmöglichkeiten und finanzielle Verluste beim Landwirt nach sich. Auswuchsresistenz ist ein wünschenswertes, allerdings durch zahlreiche genetische Faktoren und Umweltwirkungen beeinflusstes Sortenmerkmal (PAULSEN & AULD 2004, ALBRECHT *et al.* 2015). Es besteht ein eindeutiger Zusammenhang zwischen dem Prozentsatz ausgewachsener Körner und der Fallzahl (OBERFORSTER *et al.* 2012). Niedrige Fallzahlen gehen mit einer gesteigerten  $\alpha$ -Amylase-Aktivität und in der Folge mit dem partiellen Abbau der Stärke zu Zuckern einher. In österreichischen Anbau-Lieferverträgen ist eine Mindestfallzahl von 280 s für Premiumweizen, 250 s für Qualitäts- und Keksweizen sowie 220 s für Mahlweizen festgelegt; der Auswuchs darf 1% nicht übersteigen.

Die Begriffe „Auswuchsfestigkeit“ und „Fallzahlstabilität“ werden oftmals synonym gebraucht, sind aber keineswegs deckungsgleich. Denn nicht immer ist Auswuchs der Grund für niedrige Fallzahlen. Eine Anreicherung von  $\alpha$ -Amylase in den Außenschichten der Weizenkörner wegen feuchter Witterung führt anfangs noch nicht zur Stärkespaltung und Keimung. Die gemessene Schrotfallzahl zeigt vermeintliche Qualitätsprobleme an, während die Mehlfallzahl noch ein normales Niveau aufweisen kann. Erst wenn die  $\alpha$ -Amylase in das Endosperm vordringt, ist Auswuchs wahrscheinlich. Ebenso gibt es abgesenkte Fallzahlen ohne Auswuchs wenn die Phase der Stärkeeinlagerung durch Trockenstress zu rasch beendet wird (MÜNZING 2012, MÜNZING, pers. Mitt.). Auch bei Sorten mit *pre-maturity*  $\alpha$ -Amylase-Aktivität (TJIN WONG JOE *et al.* 2005) fehlt zunächst Auswuchs.

Eine ausgeprägte Fallzahlstabilität bedeutet, dass die Sorte oder der Pflanzenbestand selbst in einer regnerischen Reifephase den geforderten Mindestwert nur selten unterschreitet. Einige Weizensorten, welche bei günstigen Bedingungen hohe Fallzahlen aufweisen, büßen diese bei kritischer Witterung mitunter rasch ein. Andererseits können Sorten mit mittlerer Fallzahl-Ausprägungsstufe (APS) auch längere Zeit auf ihrem Niveau ver-

**Tabelle 1:** Übersicht der 2013/14 und 2014/15 durchgeführten Versuche

**Table 1:** Overview of the 2013/14 and 2014/15 cultivated experiments

Projekt/Versuch	Populationen/Genotypen	Prüfglieder	Feldauswuchs
NoSprout 2014			
Fuchsenbigl I	Kometus/Fakir	191	berechnet
Fuchsenbigl II	Hermann/Skalmeje	121	berechnet
Grabenegg	History/Rubens	98	berechnet
Zwettl	BAUB469511/Format	86	überständig
AmyCtrl 2015			
Fuchsenbigl	Zuchtlinien	303	berechnet
Zwettl	Zuchtlinien	303	überständig



**Abbildung 1:** Ähren von fünf Winterweizensorten mit unterschiedlicher Empfindlichkeit für Auswuchs in der Feuchtkammer. Bewertung v.l.n.r (Skala 1-9): 1, 3, 5, 7 und 9

**Figure 1:** Spikes of five winter wheat cultivars with different sensitivity to sprouting in a rain simulation chamber. Rating on a scale of 1-9 from left to right: 1, 3, 5, 7 and 9

harren (MICHEL & STÖLKEN 2010).

Manche Untersuchungen zur Auswuchsfestigkeit haben frühzeitig auch die Fallzahlstabilität berücksichtigt. Gemäß Fachbereichsstandard TGL 39473/04 (AKADEMIE DER LANDWIRTSCHAFTSWISSENSCHAFTEN 1983) werden frisch geerntete Weizenkornproben 18 h in Wasser eingeweicht, 48 h bei 14-16°C im Klimaschrank belassen, anschließend getrocknet und die Fallzahl von unprovokierten und provokierten Teilproben gemessen. PETERSEN (2010) passte die Methodik an und analysierte die abnehmende Fallzahl in einem Sortiment von Winterweizen bei sieben Provokationsstufen und einer Einweichdauer zwischen 16,5 und 42,5 h.

In Deutschland wurden nach der die Fallzahl beanspruchenden Witterung der Jahre 2010 und 2011 offizielle Sorteninformationen zur Stabilität dieses Merkmals gefordert. Aktuell sind die Winterweizensorten in fünf Fallzahl-Stabilitätsgruppen eingeteilt (BSA 2015). Basis dafür sind allerdings nicht witterungsunabhängige Labormethoden, sondern die aus Wertprüfungs- und Landessortenversuchs-Daten berechneten Fallzahl-Variationskoeffizienten (RENTEL 2013).

In der Österreichischen Beschreibenden Sortenliste (AGES 2015) ist die Fallzahlstabilität der Weizensorten nicht explizit dargestellt, geht aber mit den Merkmalen „Neigung zu Auswuchs“ und „Fallzahl“ teilweise konform. Am labilsten ist die Fallzahl bei den Winterweizensorten 'Augustus', 'Ludwig', 'Pireneo', 'Saturnus', 'Skorpion', 'Vulcanus', 'Yello' und 'Xenos'. Diese weisen eine Fallzahl-APS von „mittel bis niedrig“ bis „sehr niedrig“ und eine Auswuchs-APS von „mittel“ bis „stark“ auf. Sorten mit vergleichsweise geringen Fallzahlschwankungen sind 'Bernstein', 'Ceraso', 'Dominikus', 'Emilio', 'Frisky', 'Hewitt', 'Lennox', 'Messino', 'Sax' und 'Sherpa'. Diese zeigten in den Wertprüfungen höhere Fallzahlwerte und sind mit den APS „hoch bis mittel“ bis „sehr hoch bis

**Tabelle 2:** Variabilität von Auswuchs in der Feuchtkammer, Keimungsindex, Fallzahl im Stabilitätstest und Fallzahl beregneter oder überständiger Weizenversuche (86-303 Prüfglieder, 2014-2015)

**Table 2:** Variation of sprouting in a rain simulation chamber, germination index, falling number in a stability test and falling number of irrigated or late-harvested wheat trials (86-303 genotypes, 2014-2015)

Projekt / Versuch	Auswuchs intakter Ähren (1-9)		Keimungsindex		Fallzahl Stabilitätstest (s)		Fallzahl Feldproben (s)	
	Min–Max	Mittel	Min–Max	Mittel	Min–Max	Mittel	Min–Max	Mittel
NoSprout 2014								
Fuchsenbigl I	1,1–8,6	3,3	0,06–0,44	0,22	56–406	188	80–390	259
Fuchsenbigl II	1,7–9,1	4,1	0,17–0,48	0,36	60–323	160	61–355	195
Grabenegg	1,5–9,0	4,5	0,22–0,50	0,36	77–281	157	62–275	104
Zwettl	2,0–8,0	4,8	0,39–0,50	0,49	141–392	272	62–229	131
AmyCtrl 2015								
Fuchsenbigl	0,6–8,7	4,6	0,33–0,50	0,46	57–353	180	37–341	129
Zwettl	1,5–9,0	4,6	0,29–0,50	0,46	62–315	175	62–365	141

<sup>1)</sup> Vereinzelt Unter- bzw. Überschreiten der natürlichen Grenzen infolge der Adjustierung

hoch“ beschrieben. Die in der Österreichischen Sortenliste bei Weizen mitgeteilte Fallzahl-APS gibt indirekt Hinweise zu deren Stabilität. Wesentliche Gründe dafür sind, dass ein Teil der Prüfungen kritischem Erntewetter ausgesetzt war bzw. bei ergänzenden Register-parzellen Auswuchsverhältnisse durch Besprühen mit Wasser oder Überständigkeit simuliert wurden. Bei sensitiven Genotypen reagiert die Fallzahl bei zunehmender Umweltvariabilität verstärkt mit Wechselwirkungen.

Die Ausprägung der Keimruhe ist ein Hauptfaktor für phäno- und genotypische Unterschiede im Auswuchsverhalten (MARES 1987). Bei einem wenig dormanten Weizenbestand kann bereits eine kurzzeitig feuchte Phase zur Teig- bis Totreife die  $\alpha$ -Amylase aktivieren und den Keimprozess einleiten. Um auch nach weitgehend trockener Abreife Kenntnisse zur Empfindlichkeit gegenüber regenerischen Bedingungen zu erhalten, wurden provokative Labor-tests angewandt und die Daten mit Fallzahlen von Weizenparzellen nach künstlicher Beregnung oder Überständigkeit korreliert.

Im Jahr 2014 entwickelte der Weizen am Standort Fuchsenbigl eine ausgeprägte Dormanz. Selbst eine künstliche Beregnung von insgesamt 55 h (9 Termine) brachte bei Kometus/Fakir nur eine schwache Fallzahlabenkung. Etwas aussagekräftiger reagierte die Population Hermann/Skalmeje. In Grabenegg bedeutete eine Benetzung von 23 h (6 Termine) bei History/Rubens markant reduzierte Werte. In Zwettl bewirkte der natürliche Niederschlag bei BAUB469511/Format optimal verteilte Fallzahlen. Die in die Feuchtkammer eingebrachten Ähren reagierten sehr variabel, es gab Werte von 1 (kein Auswuchs) bis 9 (sehr starker Auswuchs) bzw. 1,1 bis 9,1 (nach Adjustierung). Beim Keimungsindex zeigten die Populationen Kometus/Fakir, Hermann/Skalmeje und History/Rubens eine gute Differenzierung (0,04 bis 0,5 bzw. adjustiert 0,06 bis 0,5). Am kühleren Standort Zwettl war bei BAUB469511/Format die Dormanz am Feld weitgehend abgebaut und die meisten Zuchtlinien keimten rasch (Keimungsindex 0,39 bis 0,5). Beim Fallzahl-Stabilitätstest sollte eine mehrwöchige Lagerung der Körner die Keimruhe verringern. Das anschließende Befeuchten führte zu unterschiedlicher Fallzahlreduktion und Werten von 62 bis 401 s bzw. nach Adjustierung von 56 bis 406 s (Tabelle 2).

Im Jahr 2015 war die Dormanz des Weizens schwach ausgeprägt und die Keimungsdaten sind vergleichsweise wenig differenziert (Index 0,29 bis 0,5). Der Versuch Fuchsenbigl wurde zwischen 17. und 27. Juli an 7 Tagen insgesamt 67 Stunden beregnet. Angesichts der geringen Keimruhe war die Befeuchtung zu intensiv und führte gehäuft zu niedrigen Fallzahlen von weniger als 100 s. Am Standort Zwettl bewirkte oftmaliger Regen zwischen Mitte August und Mitte September Auswuchs.

Die Parameter Keimung intakter Ähren und Keimungsindex sind zur Fallzahl der Feldproben erwartungsgemäß negativ korreliert. Allerdings sind die Zusammenhänge bei Kometus/Fakir teilweise nicht signifikant. Der Hauptgrund dürfte die durch eine tiefe Dormanz ungenügende Aktivierung der Amylasen gewesen sein. Die Population History/Rubens brachte mit  $r=-0,480^{**}$  und  $-0,483^{**}$  bzw.  $r=0,488^{**}$  befriedigende Ergebnisse. Bei BAUB469511/Format störte eine allzu rasche Keimung die Beziehung zum Ährenauswuchs und beiden Fallzahlmethoden. Im Projekt AmyCtrl korrelierten der Ährenauswuchs mit  $r=-0,481^{**}$  bzw.  $r=-0,443^{**}$  und der Keimungsindex mit  $r=-0,534^{**}$  bzw.  $-0,310^{**}$  mit der Fallzahl von Feldproben. Der Fallzahl-Stabilitätstest lieferte besser differenzierende Werte als die beregneten oder überständigen Parzellen. Mit  $r=0,460^{**}$  (Fuchsenbigl) bzw.  $r=0,311^{**}$  (Zwettl)

**Tabelle 3:** Intervarietale Korrelationen zwischen Auswuchs in der Feuchtkammer, Keimungsindex, Fallzahl im Stabilitätstest und Fallzahl beregneter oder überständiger Weizenversuche (86-303 Prüfglieder, 2014-2015)

**Table 3:** Intervarietal correlations between sprouting in a rain simulation chamber, germination index, falling number in a stability test and falling number of irrigated or late-harvested wheat trials (86-303 genotypes, 2014-2015)

Projekt/Versuch	Auswuchs intakter Ähren (1-9)	Keimungsindex	Fallzahl Stabilitätstest (s)
NoSprout 2014			
Fuchsenbigl I	-0,242**	-0,087ns	0,087ns
Fuchsenbigl II	-0,324**	-0,380**	0,219*
Grabenegg	-0,480**	-0,483**	0,488**
Zwettl	-0,490**	-0,136ns	0,458**
AmyCtrl 2015			
Fuchsenbigl	-0,481**	-0,534**	0,460**
Zwettl	-0,443**	-0,310**	0,311**

\*, \*\* = signifikant bei  $p<0,05$ ,  $p<0,01$

war die Übereinstimmung aber nicht enger als jene der übrigen Parameter (Tabelle 3).

### Schlussfolgerungen

Auswuchsfestigkeit und Fallzahlstabilität sind teilweise auf unterschiedlichen Mechanismen basierende komplex vererbte Merkmale. Versuche mit Simulation regnerischer Bedingungen an gelb- bis vollreifen Weizenparzellen oder eine kurzzeitige Benetzung teildormanter Körner im Labor eröffnen prinzipiell gute Möglichkeiten zur Charakterisierung dieser Parameter. Ist die Befeuchtung jedoch zu intensiv, bedeutet dies einen schnellen Verlust an phänotypischer Variabilität und Information. Der Einsatz genetischer Marker kann vor allem in frühen Generationen die Selektionsintensität steigern.

### Danksagung

Die Projekte *Validation of molecular selection methods for improvement of preharvest sprouting tolerance in winter wheat breeding material (NoSprout, CORNET Projekt 834766)* und *Marker-based selection for controlling preharvest sprouting due to untimely  $\alpha$ -amylase activity in wheat (AmyCtrl, CORNET Projekt 844040)* wurden von der FFG ([www.ffg.at](http://www.ffg.at)) und der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs finanziert.

### Literatur

AGES (2015) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2015, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2015. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES), Wien.

AKADEMIE DER LANDWIRTSCHAFTSWISSENSCHAFTEN (1983) Fachbereichstandard Qualitätsprüfungen von Getreideneuzüchtungen – Bestimmung der Auswuchsneigung bei Brotgetreide durch Provokationsversuch, TGL 39473/04. Akad. Landwirtschaftswiss. DDR, Berlin.

ALBRECHT T, OBERFORSTER M, KEMPF H, RAMGRABER L, SCHACHT J, KAZMAN E, ZECHNER E, NEUMAYER A, HARTL L, MOHLER V (2015) Genome-wide association mapping of preharvest sprouting resistance in a diversity panel of European winter wheats. *J Appl Genet* 56: 277-285. DOI: 10.1007/s13353-015-0286-5

BSA (2015) Beschreibende Sortenliste 2015. Getreide, Mais, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte. Bundessortenamt (BSA), Hannover.

HAGBERG S (1960) A rapid method for determining alpha-amylase activity. *Cereal Chem* 37: 218-222.

LENTH RV, HERVÉ M (2015) lsmeans: Least-squares means. R pack-age version 2.18. [<http://CRAN.R-project.org/package=lsmeans>]

MARES DJ (1987) Pre-harvest sprouting tolerance in white grained wheat. In: Mares DJ (Ed), *Proc 4th Int Symp Pre-harvest sprouting in cereals*, pp 64-74. Westview Press, Boulder, CO.

MICHEL V, STÖLKEN B (2010) Fallzahlstabilität aktueller Weizensorten. *LMS -aktuell* 6/2010: 44-51. [[http://www.landwirtschaft-mv.de/cms2/LFA\\_prod/LFA/content/de/Fachinformationen/Sorten/weitere\\_Artikel\\_und\\_Vortraege/index.jsp?&artikel=2997](http://www.landwirtschaft-mv.de/cms2/LFA_prod/LFA/content/de/Fachinformationen/Sorten/weitere_Artikel_und_Vortraege/index.jsp?&artikel=2997); besucht 3 März 2016]

MÜNZING K (2012) Neue Aspekte zur Bewertung und Bedeutung der Stärkebeschaffenheit bei Weizen und Roggen. *Mühle + Mischfutter* 150: 394-398.

OBERFORSTER M, RATZENBÖCK A, WERTEKER M, NEUMAYER A, ZECHNER E, HARTL L (2012) Variabilität und Beziehungen von Samendormanz, Auswuchs und Fallzahl in einem Sortiment europäischer Winterweizen. Bericht 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 22-23 Nov 2011, pp 61-68. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdring.

PAULSEN GM, AULD AS (2004) Preharvest sprouting of cereals. In: Benec Arnold RL, Sanchez RA (Eds), *Handbook of seed physiology: Applications to agriculture*, pp 199-219. Food Product Press, New York.

PETERSEN H (2010) Sortenunterschiede im Auswuchsverhalten von Winterweizen im Landessortenversuch Mecklenburg-Vorpommern 2009. Diplomarbeit, Humboldt-Universität zu Berlin.

RENTEL D (2013) Ansätze zur Beschreibung der Fallzahlstabilität von Weizensorten auf Grundlage der Wertprüfungsergebnisse. In: 26. Getreide-Tagung 2013 – Ein Rückblick, pp 9-10. Arbeitsgemeinschaft Getreideforschung (AGF), Detmold [[http://www.agfdt.de/de/veranstaltungen-rueckblick-leser/items/id-26-getreide-tagung-2013.html?file=tl\\_files/dateien-nachrichten/rueckblicke/Nachbetrachtung%20GT%202013.pdf](http://www.agfdt.de/de/veranstaltungen-rueckblick-leser/items/id-26-getreide-tagung-2013.html?file=tl_files/dateien-nachrichten/rueckblicke/Nachbetrachtung%20GT%202013.pdf); besucht 18 Dez 2015]

SCHACHSCHNEIDER R, HEINZE M (2009) Neue Methode zur Ermittlung der Fallzahlstabilität. *Praxisnah – Fachinformationen für die Landwirtschaft* 3/2009: 6-7.

SCHACHSCHNEIDER R, HEINZE M (2010) Methode zur Bewertung der Fallzahlstabilität von Winterweizensorten. *Mühle + Mischfutter* 148: 281-283.

TJIN WONG JOE AF, SUMMERS RW, LUNN GD, ATKINSON MD, KETTLEWELL PS (2005) Pre-maturity  $\alpha$ -amylase and incipient sprouting in UK winter wheat, with special reference to the variety Rialto. *Euphytica* 143: 265-269. DOI: 10.1007/s10681-005-7877-x

WALKER-SIMMONS M (1987) ABA levels and sensitivity in developing wheat embryos of spouting resistant and susceptible cultivars. *Plant Physiol* 84: 61-66. DOI: 10.1104/pp.84.1.61

## Soybean quality: Options for improvement of food safety and health value

Johann VOLLMANN\*, Daisuke WATANABE\*, Nóra ADÁNYI<sup>§</sup>, Tomáš LOŠÁK<sup>‡</sup>,  
Helmut K. MAYER<sup>#</sup>

\* BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Plant Breeding Division, Konrad Lorenz Str. 24, 3430 Tulln, Austria

<sup>§</sup> National Agricultural Research and Innovation Centre, Food Science Research Institute, Hermann Ottó út. 15, 1022 Budapest, Hungary

<sup>‡</sup> Mendel University in Brno, Department of Environmentalistics and Natural Resources, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>#</sup> BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Food Chemistry Laboratory, Muthgasse 11, 1190 Vienna, Austria

(✉) johann.vollmann@boku.ac.at

**Abstract** During the last decade, European soybean production has been growing considerably because of the high demand for domestic protein sources for both livestock feed and human food production. Due to its outstanding seed protein content of over 40%, soybean is increasingly utilized as a source of protein both in traditional soy-foods as well as in modern food technology. As a consequence, food safety and food health properties of soybean are gaining in importance as well. As soybean contains several allergenic proteins and is a prominent accumulator of cadmium from soil, breeding for improved food safety is of great interest in the development of food-grade soybean cultivars. Moreover, genetic variation in bioactive components with health-promoting effects such as oligosaccharides, isoflavones or polyamines could be utilized as well for improving the functional value of soy-foods.

Thus, early maturity soybean populations (maturity groups 000-0) have been developed for either reducing the allergen content, for selection of low cadmium uptake or for analysing genetic variation in seed polyamine concentration. Breeding lines were grown at locations in the east of Austria between 2012 and 2014. From samples harvested, different types of seed quality analysis were carried out: 2D electrophoresis and Western blot were applied for identification of soybean lines lacking a major allergen protein, atomic absorption was used for determining cadmium and ultra-high performance liquid chromatography was utilized for measuring polyamine concentration of seed.

Based on a population segregating for the immunodominant soybean allergen P34, early maturity lines free of P34 were developed from the cross between an adapted 000 parent and a genebank accession of maturity group IV

being the donor of the P34 allergen free allele. These lines can serve as a base population for introgressing the low-P34 trait into adapted cultivars and for further characterizing the low-P34 trait in food science and immunology.

Based on a QTL described earlier, a microsatellite marker was used to group soybean cultivars and lines into either low or high cadmium accumulating genotypes. Depending on genotype and location, seed cadmium concentration was in the range between 0.06 and 0.16 mg/kg for high and between 0.03 and 0.08 mg/kg for low cadmium accumulation genotypes, respectively. Both within the low and the high cadmium accumulating groups, significant variation in cadmium concentration was detected which opens possibilities for further selection.

In another set of soybean lines, genetic variation was found for polyamines and free amino acids. In particular, soybean is a rich source of spermidine with levels ranging between 190 and 285 mg/kg. As spermidine very recently has been associated with strong anti-aging effects in both animal models and humans, it might significantly contribute to the health benefits associated with soy-food consumption and therefore could become a future target of selection in food-grade soybeans.

The results of the present study indicate that there is sufficient genetic variation in food safety and health-promoting characters of soybean. Particularly, marker-assisted selection for reduction of cadmium accumulation could be easily incorporated into cultivar development thus adding a significant food safety benefit to food-grade soybeans.

**Keywords** Anti-aging effect · cadmium · food allergy · *Glycine max* · health promoting effect · QTL

## Further reading

JEGADEESAN S, YU K, POYSA V, GAWALKO E, MORRISON MJ, SHI C, COBER E (2010) Mapping and validation of simple sequence repeat markers linked to a major gene controlling seed cadmium accumulation in soybean [*Glycine max* (L.) Merr]. *Theor Appl Genet* 121: 283-294. DOI: 10.1007/s00122-010-1309-6

SATO T, VAN SCHOOTE M, WAGENTRISTL H, VOLLMANN J (2014) Effects of divergent selection for seed protein content in high-protein vs. food-grade populations of early maturity soybean. *Plant Breed* 133: 74-79. DOI: 10.1111/pbr.12138

VOLLMANN J, LOSAK T, PACHNER M, WATANABE D, MUSILOVA L, HLUSEK J (2015) Soybean cadmium concentration: validation of a QTL affecting seed cadmium accumulation for improved food safety. *Euphytica* 203: 177-184. DOI: 10.1007/s10681-014-1297-8

VOLLMANN J, WATANABE D, PACHNER M, KHUDAYKULOV J, LOSAK J, (2015) Soybean quality: Adaptation to European needs. *Legume Perspectives* (International Legume Society) 8: 19-20.

## Improving yield potential, yield stability and seed quality of lupins as protein plants (LupiBreed)

Brigitte RUGE-WEHLING\*, Kristin FISCHER\*, Steffen ROUX\*, Regine DIETERICH<sup>§</sup>

\* Julius Kühn Institut, Rudolf-Schick-Platz 3a, 18190 Sanitz, Germany

<sup>§</sup> Saatzucht Steinach GmbH & Co. KG, Klockower Straße 11, 17219 Bocksee, Germany

(✉) [brigitte.ruge-wehling@jki.bund.de](mailto:brigitte.ruge-wehling@jki.bund.de)

**Abstract** The overall goal of the project *LupiBreed* is to improve productivity of narrow-leafed sweet lupin (*Lupinus angustifolius*) and yellow sweet lupin (*L. luteus*) with regard to kernel yield, yield stability, and seed composition. In addition, the question will be addressed whether the narrow genetic basis of current breeding materials may be broadened by analyzing EMS induced novel growth types with yield potential as well as genebank accessions as plant genetic resources.

A combined approach of plant breeding and crop science is followed to improve anthracnose resistance in *L. angustifolius* and *L. luteus*. So far, only one resistance gene *Lanr1*, derived from the Australian cultivar 'Tanjil' is known worldwide. A novel, highly effective resistance was identified in a German breeding line. Resistance tests under controlled conditions, genetic analysis and marker development were performed using segregating mapping populations. Lupin anchor markers enabled to locate the novel resistance locus, designated as *LanrBo*, on linkage group NLL-11 of *L. angustifolius*. Currently closely linked markers as selection tools for *LanrBo* are developed to enhance breeding by marker-assisted selection.

For increasing relevant traits such as kernel yield, pod shattering resistance, raw protein and alkaloid content novel plant genetic resources are checked over three years and three locations in extensive performance tests.

The project is expected to provide incentives to lupin breeding, to improve agricultural practice and to enhance acceptance of lupins as protein sources for feed and food applications.

**Keywords** Anthracnose · *Lupinus angustifolius* · *Lupinus luteus* · protein · yield increase · yield stability

### Acknowledgement

The project is supported by the Federal Ministry of Food and Agriculture within the Strategy for Protein Crops.

### Further reading

FISCHER K, DIETERICH R, NELSON MN, KAMPHUIS LG, SINGH KB, ROTTER B, KREZDORN N, WINTER P, WEHLING P, RUGE-WEHLING B (2015) Characterization and mapping of *LanrBo*: a locus conferring anthracnose resistance in narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Theor Appl Genet* 128: 2121-2130. DOI: 10.1007/s00122-015-2572-3

NELSON M, HUYEN P, ELLWOOD S, MOOLHUIJZEN P, HANE J, WILLIAMS A, O'LONE C, FOSU-NYARKO J, SCOBIE M, CAKIR M, JONES M, BELLGARD M, KSIAZKIEWICZ M, WOLKO B, BARKER S, OLIVER R, COWLING W (2006) The first gene-based map of *Lupinus angustifolius* L.-location of domestication genes and conserved synteny with *Medicago truncatula*. *Theor Appl Genet* 113: 225-238. DOI: 10.1007/s00122-006-0288-0

NELSON MN, MOOLHUIJZEN PM, BOERSMA JG, CHUDY M, LESNIEWSKA K, BELLGARD M, OLIVER RP, ŚWIĘCICKI W, WOLKO B, COWLING WA, ELLWOOD SR (2010) Aligning a new reference genetic map of *Lupinus angustifolius* with the genome sequence of the model legume, *Lotus japonicus*. *DNA Res* 17: 73-83. DOI: 10.1093/dnares/dsq001

YANG H, BOERSMA J, YOU M, BUIRCHELL B, SWEETINGHAM M (2004) Development and implementation of a sequence-specific PCR marker linked to a gene conferring resistance to anthracnose disease in narrow-leafed lupin (*Lupinus angustifolius* L.). *Mol Breed* 14: 145-151. DOI: 10.1023/B:MOLB.0000038003.49638.97



## Variability of agronomic and qualitative traits of winter rye and spelt landraces from North and South Tyrol - The project CereAlp

Manuel PRAMSOHLER\*, Giovanni PERATONER\*, Christian PARTL<sup>§</sup>

\* Land- und Forstwirtschaftliches Versuchszentrum Laimburg, Pfatten, 39040 Auer (BZ), Italy

<sup>§</sup> Amt der Tiroler Landesregierung, Heiliggeiststr. 7-9, 6020 Innsbruck, Austria

(✉) manuel.pramsohler@provinz.bz.it

**Abstract** A germplasm collection of 59 landraces of rye (*Secale cereale* L.) and 10 landraces of spelt (*Triticum spelta* L.) from North and South Tyrol is available. Landraces are thought to be well adapted to the environmental conditions of the region where they have been evolved. They are further considered to be highly tolerant to biotic and abiotic stress conditions. The aim of the project CereAlp was to examine the agronomic and qualitative traits of the collected landraces.

All investigated landraces are stored at the germplasm collection of the Research Centre for Agriculture and Forestry Laimburg and at the germplasm collection of the Province of Tyrol, Innsbruck. Field experiments were conducted at four different field sites (two sites each in South and North Tyrol) in the year 2013/14. The experimental design for the characterization of the rye varieties was an incomplete block design with two replications and a plot size of 4.8 m<sup>2</sup>. For the spelt varieties a randomized complete block design with three replications and a plot size of 3.6 m<sup>2</sup> was used. Modern cultivars of winter rye and spelt were used as check varieties. The following agronomic traits were studied: winter hardiness, days to maturity, straw length, resistance to lodging, seed shattering, grain yield, seeds per spike, spike density, harvest index, thousand grain weight. Experiments under controlled greenhouse conditions were performed to investigate the resistance of the collected landraces to *Fusarium* ssp., *Puccinia* ssp. and *Microdochium nivale*. The resistance of the rye landraces to ergot (*Claviceps purpurea*) was investigated by determining the content of ergot in the harvested material.

For the qualitative characterization of the landraces the following parameters were studied: hectolitre weight, falling number, protein and starch content, content of aspartic acid, total phenolic content, content of pentosans, amylogram, gluten index. With selected varieties a standard baking test was performed.

A high variability of agronomic and qualitative traits within

the collection was found. For the investigated landraces of winter rye all agronomic traits with exception of spike density were found to be significantly influenced by the variety. For the qualitative traits the following traits were not significantly influenced by the variety: falling number, protein content, starch content. For the spelt landraces the following agronomic and qualitative traits were found to be not significantly influenced by the variety: spikelets per spike, starch content, total phenolic content. Detailed information about the project is available at the project website [www.cerealp.it](http://www.cerealp.it). All data of the agronomic and qualitative characterization of the landraces was summarized in variety profiles that are also available on the project website.

**Keywords** Adaptation · Alpine cereal production · *Secale cereale* · *Triticum spelta*

### Acknowledgement

The project CereAlp was founded by the operational programme Interreg IV Italy-Austria. We thank C. Florian, C. Klotz, U. Figl and S. Seling for assistance in the field and in the lab.

### Further reading

PERATONER G, SELING S, KLOTZ C, FLORIAN C, FIGL U, SCHMITT AO (2016) Variation of agronomic and qualitative traits and local adaptation of mountain landraces of winter rye (*Secale cereale* L.) from Val Venosta/Vinschgau (South Tyrol). *Genet Resour Crop Evol* 63: 261-273. DOI: 10.1007/s10722-015-0245-3

CAMACHO VILLA TC, MAXTED N, SCHOLTEN M, FORD-LLOYD B (2005) Defining and identifying crop landraces. *Plant Genet Resour* 3: 373-384. DOI: 10.1079/PGR200591

DIEDERICHSEN A, SOLBERG SØ, JEPSON S (2013) Morphological changes in Nordic spring wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces and cultivars released from 1892 to 1994. *Genet Resour Crop Evol* 60: 569-585. DOI: 10.1007/s10722-012-9858-y

PERSSON K, VON BOTHMER R, GULLORD M, GUNNARSSON E (2006) Phenotypic variation and relationships in landraces and improved varieties of rye (*Secale cereale* L.) from northern Europe. *Genet Resour Crop Evol* 53: 857-866. DOI: 10.1007/s10722-004-6694-8

ZEVEN AC (1998) Landraces: a review of definitions and classifications. *Euphytica* 104: 127-139. DOI: 10.1023/A:1018683119237



## Zusammenhang agronomischer Merkmale und N-Effizienz von Winterweizen bei unterschiedlicher Wasserversorgung

### *Relationship of agronomic characters and N-efficiency of winter wheat under different water supply*

Clemens FLAMM\*, Thomas GRISSMANN\*, Lorenz HARTL<sup>§</sup>, Maren LIVAJA<sup>‡</sup>

\* Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Spargelfeldstraße 191, 1220 Wien, Österreich

§ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, 85354 Freising, Deutschland

‡ Technische Universität München (TUM), Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Liesel-Beckmann-Straße 2, 85354 Freising, Deutschland

(✉) clemens.flamm@ages.at

**Abstract** In the years 2012-2013, winter wheat trials with 30 genotypes were cultivated in the Austrian Pannonic region at different water availability levels. In order to measure N-efficiency, grain protein yield was defined. Due to water supply, N-efficiency was more influenced by grain yield or protein content. Varieties with higher protein content at flowering as well as in straw showed a significantly lower grain protein yield. In the selected nursery early maturing varieties were more N-efficient at a high water supply level than later ones. The traits leaf rolling, glaucosity and chlorophyll content of the leaves, as well as yield components didn't influence N-efficiency. Genotypic variation was significant. 'Ubcus' was at each water level the most N-efficient variety, 'Format' showed lowest N-efficiency. Summarized, none of the investigated parameters provides the necessary information on N-efficiency in order to select already in early generations. Only grain yield and protein content allow a selection on N-efficiency.

**Keywords** Drought · irrigation · protein yield · *Triticum aestivum*

#### Einleitung

Der weltweite Klimawandel beeinflusst auch die Landwirtschaft in Mitteleuropa. Extremereignisse wie Dürre- und Hitzeperioden treten immer häufiger auf, der pannonische Klimaraum ist besonders davon betroffen (AHRENS *et al.* 2014). Die Aufnahme von Stickstoff, dem wichtigsten Pflanzennährstoff, wird von Trockenheit und Hitze erheblich beeinflusst. Um den eingesetzten Stickstoff möglichst vollständig zu verwerten, kommt der N-Effizienz unter Bedingungen unterschiedlicher Wasserversorgung große Bedeutung zu.

#### Material und Methoden

##### *Pflanzenmaterial und Umwelten*

In den Jahren 2011/12 und 2012/13 wurden Winterweizenversuche an den Standorten Niederweiden (NWe, Bez. Gänserndorf) und Tattendorf (Tat, Bez. Baden) sowie in der Saison 2012/13 in Wien (WSP) durchgeführt. An allen Standorten wurden die Sorten mit zwei Wasserversorgungsvarianten (I, II) getestet. In NWe und Tat erfolgte dies neben der Variante „natürlicher Niederschlag“ (I) mit zwei bis drei Beregnungsgaben von zusätzlich je 25-30 L/m<sup>2</sup> als zweite Variante (II). In WSP wurden neben der Variante I die Niederschläge durch ein Rollglashaus von April bis Juni größtenteils abgehalten und somit künstlich Trockenstress (II) erzeugt.

Winterweizensorten ( $n=30$ ) deutscher, österreichischer und ungarischer Züchter wurden getestet. Sie zeigten eine unterschiedliche Backqualität und wurden nach AGES (2015) bzw. OBERFORSTER *et al.* (1994) als Qualitätsweizen (QW), Mahlweizen (MW) oder Futterweizen (FW) charakterisiert.

Der Anbau erfolgte zwischen 3. und 25. Oktober nach Winterraps, Sommergerste, Sonnenblume bzw. Erbse (mit Einarbeitung) in einer Gitteranlage mit drei Wiederholungen. Die Versuche erhielten 57-128 kg N/ha, aufgeteilt auf zwei bis drei Gaben. Zur Blüte wurde ein Teil der Parzellen beprobt (dieser Grünschnitt wird in Folge „Biomasse zur Blüte“ bezeichnet). Die Parzellengröße variierte dabei von 0,1 m<sup>2</sup> (Rollglashaus) bzw. von 1,9 bis 2,0 m<sup>2</sup> an den Standorten Tat und NWe. Bei der restlichen Parzelle wurde zur Totreife die Korn- und Strohernte durchgeführt (1,0 m<sup>2</sup> (Rollglashaus) bzw. 10,0 bis 13,6 m<sup>2</sup>).

##### *Untersuchungsmerkmale*

Folgende Parameter wurden erfasst: Datum Ährenschieben (BBCH 59), Datum Blüte (BBCH 65), Datum Gelbreife (BBCH 87), Fahnenblattseneszenz (%-Schätzung zu drei Terminen zwischen BBCH 79 und 89), Chlorophyllgehalt an 4 Terminen (SPAD-Werte bei BBCH 31-43, 43-59, 60-73, 73-83), Wuchshöhe (cm), Bestandesdichte (Ähren/m<sup>2</sup>), Tausendkorngewicht (g), Kornertrag (dt/ha), Biomasse zur Blüte und Reife (dt/ha), Bereifung des Fahnenblattes (WACH, 1-9), Blattrollen (1-9).

Der Rohproteingehalt wurde nach ICC-Standard Nr. 167 von Biomasse bei der Blüte und Stroh (N×6,25) sowie Korn (N×5,7) untersucht. Der Proteinertrag resultiert aus den Biomasse- bzw. Kornertrag und dem Proteingehalt.

Folgende Parameter wurden errechnet: Länge der Kornfüllungsphase, Ertragsstruktur (Kornzahl/Ähre, Kornzahl/m<sup>2</sup>, Ährengewicht) sowie Indices zur Charakterisierung der N-Aufnahme und N-Verwertung:

- N-Entzug Korn (EZK) = 100×Rohproteinertrag Korn/5,7
- N-Entzug Stroh (EZNS) = 100×Rohproteinertrag Stroh/6,25
- N-Verwertungseffizienz = Kornertrag/(EZNS+EZK)
- N-Ernteindex = N%-Korn×Kornertrag/(EZNS+EZK)

#### Statistische Analysen

Die Varianzanalyse (ANOVA) und intervarietale Korrelationen wurden mit der Software IBM SPSS Statistics (Vers. 22) durchgeführt. Die Parameter Blattrollen, Bereifung sowie SPD0, SPD1 und SPD3 wurden nicht verrechnet, da sie nicht in allen Umwelten erhoben wurden. Die Mittelwerte der berechneten und Varianten mit natürlichem Niederschlag umfassten alle Standorte, in die ANOVA wurden hingegen nur die 2-jährigen Standorte einbezogen.

#### Ergebnisse und Diskussion

Stickstoffeffizienz ist sowohl im Biolandbau als auch unter konventionellen Bedingungen eine bedeutsame Eigenschaft von Getreidesorten (MAIDL *et al.* 2000). Eine Reihe von Indices zur Charakterisierung der N-Effizienz wurde beschrieben, beispielsweise N-Aufnahmeeffizienz und N-Verwertungseffizienz (MOLL *et al.* 1982). Da laut GAJU *et al.* (2011) die genetische Variabilität mehr durch die N-Verwertung als durch die N-Aufnahme beeinflusst wird, wurde erstere errechnet. Als Bezugspunkt für die N-Effizienz wurde jedoch der einfach feststellbare Parameter Kornproteinertrag verwendet (SPANAKAKIS & RÖBBELEN 1990, SPANAKAKIS 2000).

Die Varianzanalyse zeigte einen signifikanten Einfluss der Faktoren Jahr (J), Sorte (S) und Beregnung (B) auf das Datum des Ährenschiebens, der Blüte und Gelbreife, sowie der Einkörnungsperiode (Tabelle 1). Die Wechselwirkung S×B war nur für die Gelbreife und

Einkörnungsperiode signifikant. Dies bedeutet, dass eine geänderte Wasserversorgung eine unterschiedliche Auswirkung auf die Gelbreife der Sorten hatte. Beim Ährenschieben und zur Blüte waren die Reaktionen der Genotypen hingegen gleich. Ein Wasserdefizit beschleunigte die Entwicklung, die drei Stadien wurden um 3-5 Tage früher erreicht und die Einkörnungsperiode wurde um drei Tage verkürzt. Die Heritabilität dieser Merkmale war durchwegs hoch (82-96 %).

Sorte und Beregnung sowie deren Wechselwirkung waren bei den Schätzungen der Fahnenblattseneszenz ebenfalls signifikant. Jahreseffekte konnten nur bei den beiden späteren Terminen festgestellt werden. Im Mittel der Sorten und Standorte alterten die Blätter unter trockeneren Bedingungen um 22 bis 38 % rascher. Die Heritabilität stieg im Laufe der Blattalterung an. Bei der Wuchshöhe waren die Einzelfaktoren hoch signifikant, es gab aber keine Wechselwirkung S×B (Tabelle 2). Bei reduziertem Wasserangebot nahm die Pflanzenlänge durchschnittlich um 10 cm ab. Das Merkmal erwies sich mit 99 % als besonders heritabel.

Beim Chlorophyllgehalt des Fahnenblattes waren im Mittel nur sehr geringe Unterschiede zwischen den Beregnungsvarianten feststellbar. Dennoch waren alle Faktoren sowie deren Wechselwirkungen signifikant. Die Heritabilität war sehr hoch (86%). Bei den Ertragsparametern (Biomasse zur Blüte, Stroh, Korn) zeigten sich signifikante Einflüsse von allen Faktoren, die Wechselwirkung S×B hatte nur beim Strohertrag einen beweisbaren Einfluss. Das zusätzliche Wasserangebot erhöhte die Erträge um 14,5-20,9 dt/ha. Die geringste Heritabilität wurde bei der Biomasse zur Blüte nachgewiesen, beim Strohertrag hingegen eine sehr hohe.

Alle primären und sekundären Komponenten der Ertragsstruktur wiesen signifikante Einflüsse von Sorte und Beregnung auf (Tabellen 2 & 4). Die Wechselwirkung B×S war nur bei der Bestandesdichte und bei der Kornzahl je Ähre signifikant. Bei allen Komponenten kam es zu einer Abnahme unter trockenen Bedingungen, am stärksten bei der Bestandesdichte (-61 Ähren/m<sup>2</sup>), der Kornzahl je Ähre (-3 Körner), sowie der Korndichte (-3070 Körner/m<sup>2</sup>). Die Heritabilitäten lagen großteils im hohen Bereich.

Bei allen Proteingehalten waren die Beregnungseinflüsse nachweisbar, Sorteneinflüsse hingegen nur in der Biomasse zur Blüte und im Korn (Tabelle 3). Relevante Wechselwirkungen B×S gab es

**Tabelle 1:** Varianzanalyse, Mittelwerte und Heritabilität von Merkmalen der Pflanzenentwicklung (2 Orte, 2 Wasserversorgungsstufen, 30 Sorten, 2012-13)

**Table 1:** Analysis of variance, means and heritability of parameters of crop development and ripening, (2 locations, 2 water supply levels, 30 varieties, 2012-13)

	DTAE <sup>1</sup>	DTBL	DTGR	GRAE	SZF1	SZF2	SZF3
Natürlicher Niederschlag	142	148	183	41	29,1	75,8	91,8
Beregnung	144	151	188	44	6,7	37,7	69,2
Differenz	2	3	5	3	-22,4	-38,1	-22,6
Ort (O)	7,36 **	0,51	6,76 **	23,91 ***	54,40 ***	41,31 ***	107,91 ***
Jahr (J)	4247,86 ***	6929,88 ***	1358,19 ***	9663,12 ***	1,57	439,44 ***	325,60 ***
Sorte (S)	220,52 ***	105,20 ***	3,78 ***	62,48 ***	20,14 ***	21,04 ***	13,58 ***
Beregnung (B)	466,15 ***	414,22 ***	50,91 ***	381,09 ***	405,57 ***	461,54 ***	236,13 ***
O×J	418,81 ***	260,18 ***	4,74 *	4,27 *	291,91 ***	160,61 ***	229,42 ***
O×S	6,76 ***	5,43 ***	1,18	5,99 ***	4,20 ***	1,10	1,11
O×B	335,95 ***	214,82 ***	0,04	385,94 ***	88,03 ***	64,95 ***	1,56
J×S	8,26 ***	8,27 ***	1,98 **	12,53 ***	8,41 ***	3,62 ***	2,15 ***
J×B	0,24	0,00	29,85 ***	42,56 ***	45,72 ***	6,86 **	9,08 **
S×B	1,17	0,63	2,29 ***	1,98 **	4,42 ***	1,96 **	2,10 ***
O×J×S	3,30 ***	3,38 ***	1,09	3,38 ***	5,27 ***	1,71 *	3,24 ***
O×J×B	4,32 *	3,62	0,70	34,57 ***	74,01 ***	2,73	6,06 *
O×S×B	1,28	0,96	1,82 **	2,36 ***	1,87 **	0,78	1,58 *
J×S×B	1,84 **	2,36 ***	2,31 ***	2,23 ***	2,06 **	1,46	2,59 ***
O×J×S×B	1,07	1,28	1,47	1,49	2,84 ***	0,69	0,43
Fehler	1,59	2,74	27,57	2,16	93,50	274,84	221,64
Heritabilität	0,96	0,93	0,86	0,82	0,61	0,89	0,90

<sup>1</sup> DTAE, Datum Ährenschieben (Tage ab 1. Jänner); DTBL, Datum Blüte (Tage ab 1. Jänner); DTGR, Datum Gelbreife (Tage ab 1. Jänner); GRAE, Kornfüllungsphase (Tage); SZF1-3, Fahnenblattseneszenz 1-3 (%)

\*\*\*, \*\*, \*, signifikant bei p≤0,001, p≤0,01 bzw. p≤0,05

**Tabelle 2:** Varianzanalyse, Mittelwerte und Heritabilität agronomischer Merkmale (2-3 Standorte, 2 Wasserversorgungsstufen, 30 Sorten, 2012-2013)

**Table 2:** ANOVA, means and heritability of agronomic traits (2-3 locations, 2 water supply levels, 30 varieties, 2012-2013)

	WHOE <sup>1</sup>	SPD2	TR1M	STRM	KOER	BEST
Natürlicher Niederschlag	73,0	48,0	81,6	38,2	59,7	397
Berechnet	83,2	48,3	96,8	59,1	74,1	457
Differenz	10,2	0,3	15,2	20,9	14,6	60
Ort (O)	76,39 ***	482,23 ***	832,48 ***	125,92 ***	6,55 *	40,45 ***
Jahr (J)	2168,54 ***	33,08 ***	32,68 ***	1362,81 ***	7625,57 ***	511,59 ***
Sorte (S)	84,46 ***	6,39 *	2,74 ***	31,54 ***	11,53 ***	4,61 ***
Beregnung (B)	1218,39 ***	29,60 ***	133,34 ***	1044,94 ***	283,45 ***	87,70 ***
O×J	2290,18 ***	898,97 ***	1545,50 ***	2575,71 ***	2341,57 ***	279,33 ***
O×S	1,07	54,15 ***	1,38	3,98 ***	2,75 ***	1,39
O×B	0,40	4,05 ***	64,28 ***	2,67	13,74 ***	189,99 ***
J×S	1,90 **	18,16 ***	0,90	4,31 ***	4,01 ***	1,18
J×B	976,82 ***	8,21 ***	377,52 ***	140,15 ***	116,81 ***	44,56 ***
S×B	1,03	2,54 ***	0,58	6,41 ***	1,05	1,58 *
O×J×S	3,70 ***	17,38 ***	0,94	8,23 ***	2,91 ***	1,77 **
O×J×B	27,04 ***	4,98 ***	32,46 ***	3,77	4,17 *	5,85 *
O×S×B	1,35	1,93 **	1,07	4,38 ***	0,87	0,71
J×S×B	1,30	2,38 ***	0,91	2,79 ***	0,76	1,20
O×J×S×B	0,57	2,22 ***	0,97	5,71 ***	0,95	0,73
Fehler	18,21	7,13	266,89	82,13	48,59	3228,38
Heritabilität	0,99	0,82	0,55	0,98	0,85	0,62

<sup>1</sup> WHOE, Wuchshöhe (cm); SPD2, Chlorophyllgehalt Fahrenblatt (SPAD); TR1M, Trockenmasseertrag Blüte (dt/ha); STRM, Strohertrag (dt/ha); KOER, Kornenertrag (dt/ha); BEST, Bestandesdichte (Ähren/m<sup>2</sup>)  
\*\*\*, \*\*, \*, signifikant bei p≤0,001, p≤0,01 bzw. p≤0,05

**Tabelle 3:** Varianzanalyse, Mittelwerte und Heritabilität des Proteingehaltes und Proteintrages der geernteten Biomasse (2 Wasserversorgungsstufen, 30 Sorten, 2012-2013)

**Table 3:** ANOVA, means and heritability of protein content and protein yield of harvested biomass (2 water supply levels, 30 varieties, 2012-2013)

	RP1 <sup>1</sup>	RP5	RPRT	RP1Q	RGPQ	RPSQ
Natürlicher Niederschlag	11,5	3,2	14,9	7,3	8,7	7,5
Berechnet	12,1	3,0	14,2	8,4	11,0	9,2
Differenz	0,6	-0,2	-0,7	1,1	2,3	1,7
Jahr (J)	254,81 ***	63,15 ***	25,28 ***	17098,54 ***	1110,29 ***	1203,92 ***
Beregnung (B)	6,31 *	10,23 **	100,63 ***	2,34	59,28 ***	37,76 ***
Sorte (S)	7,01 ***	0,22	6,83 ***	7,02 ***	1,63 *	1,69 *
J×B	49,31 ***	10,46 **	26,54 ***	34,95 ***	34,04 ***	60,61 ***
J×S	1,40	0,14	1,73 *	5,73 ***	0,77	0,82
B×S	0,65	0,05	0,36	1,08	0,36	0,26
J×B×S	0,56	0,06	0,19	1,19	0,42	0,24
Fehler	0,08	0,08	0,07	1,81	5,40	1,28
Heritabilität	0,97	0,90	0,77	0,41	0,48	0,40

<sup>1</sup> RP1, Rohproteingehalt Biomasse zur Blüte (%); RP5, Rohproteingehalt Biomasse zur Ernte (%); RPRT, Rohproteingehalt Korn (%); RP1Q, Rohproteintrag Biomasse zur Blüte (dt/ha); RGPQ, Rohproteintrag Gesamtbiomasse zur Ernte (dt/ha); RPSQ, Rohproteintrag Korn (dt/ha)  
\*\*\*, \*\*, \*, signifikant bei p≤0,001, p≤0,01 bzw. p≤0,05

**Tabelle 4:** Varianzanalyse, Mittelwerte und Heritabilität der N-Indices und Ertragsstruktur (2 Wasserversorgungsstufen, 30 Sorten, 2012-2013)

**Table 4:** ANOVA, means and heritability of N-indices and yield components (2 water supply levels, 30 varieties, 2012-2013)

	NHI <sup>1</sup>	NUE	TKG	KZAE	KZM2	AEGW
Natürlicher Niederschlag	1,03	0,40	44,3	33,4	13295	1,5
Berechnet	0,97	0,39	44,5	36,3	16365	1,6
Differenz	-0,06	-0,01	0,2	2,9	3070	0,1
Jahr (J)	88,31 ***	934,55 ***	152,33 ***	123,38 ***	697,51 ***	197,95 ***
Beregnung (B)	237,64 ***	21,46 ***	7,60 **	78,94 ***	178,82 ***	22,68 ***
Sorte (S)	11,42 ***	8,03 ***	14,57 ***	16,51 ***	9,64 ***	5,23 ***
J×B	22,58 ***	8,02 **	12,79 ***	25,85 ***	60,29 ***	22,16 ***
J×S	4,46 ***	1,91 **	1,16	2,13 ***	0,88	1,37
B×S	2,19 ***	0,48	1,09	2,52 ***	0,53	1,00
J×B×S	2,69 ***	0,72	0,48	1,27	0,19	0,79
Fehler	0,00	33,33	14,31	24,85	5896479	0,08
Heritabilität	0,71	0,88	0,86	0,86	0,92	0,65

<sup>1</sup> NHI, N-Ernteindex; NUE, N-Verwertungseffizienz; TKG, Tausendkorngewicht; KZAE, Kornzahl/Ähre; KZM2, Korndichte (Kornzahl/m<sup>2</sup>); AEGW, Ährenge-  
wicht (g)  
\*\*\*, \*\*, \*, signifikant bei p≤0,001, p≤0,01 bzw. p≤0,05

nicht. In der Stufe mit reduziertem Wasserangebot nahm der Proteingehalt bis zum Blühzeitpunkt ab, stieg später aber wieder an. Der Sorteneinfluss zeigte sich beim Proteintrag der Biomasse zur Blüte, des Strohs sowie der Körner. Der Faktor Beregnung hingegen war nur beim Proteintrag der reifen Ernteprodukte belegbar. B×S-Wechselwirkungen konnten nicht festgestellt werden. Bei weniger Wasser nahm der Proteintrag um 1,1-2,4 dt/ha ab. Die Heritabilitäten lagen zwischen 40-48%. Beim N-Ernteindex waren alle Faktoren sowie Einfach-Wechselwirkungen signifikant, beim N-Verwertungsindex hingegen nur die Faktoren. Die Heritabilität war bei beiden hoch.

Intervarietale Korrelationen der Ertragsparameter, der Proteingehalte der Ernteprodukte sowie agronomischer Merkmale mit dem Kornproteintrag, brachte folgendes Ergebnis: Bei günstiger Wasserversorgung stehen der Korntrag und bei reduziertem Wasserangebot der Kornproteingehalt in positivem Zusammenhang mit der N-Effizienz (Tabelle 5). Vergleichbare Ergebnisse erzielten auch OBERFORSTER & WERTEKER (2005) im österreichischen Wertprüfungssortiment. Die zuvor beschriebenen Parameter beeinflussen wiederum den Proteintrag der Ganzpflanze signifikant.

Jene Sorten, welche zur Blüte einen höheren Proteingehalt und höheren Proteintrag in der Biomasse aufwiesen, sind besonders bei günstigem Wasserangebot weniger N-effizient. Dies kann durch den deutlich verschiedenen Blühzeitpunkt der Genotypen erklärt werden. Die früh blühenden ungarischen Sorten waren wegen des einheitlichen Schnitttermines während der Blüte bereits weiter entwickelt als die sich langsam entwickelnden viel N-effizienteren Sorten. Dennoch bestätigten sich die Ergebnisse von BARESEL *et al.* (2003), dass der größte Teil des Stickstoffs bereits zur Blüte von der Pflanze aufgenommen wurde. N-effiziente Sorten konnten den Stickstoff besser

**Tabelle 5:** Intervariationale Korrelationen der untersuchten Merkmale auf den Kornproteinenertrag (2-3 Standorte, 2 Wasserversorgungsstufen, 30 Sorten, 2012-2013)

**Table 5:** Interspecific correlations of different characters on grain protein yield (2-3 locations, 2 water supply levels, 30 varieties, 2012-2013)

Merkmal <sup>1</sup>	Natürlicher NS	Berechnet	Merkmal	Natürlicher NS	Berechnet
KOER	0,31	0,46 *	DTAE	-0,31	-0,57 **
STRM	0,29	-0,05	DTBL	-0,23	-0,52 **
TR1M	0,58 **	0,32	DTGR	-0,33	-0,56 **
RP1Q	0,21	-0,37 *	GRAE	0,23	0,50 **
RPSQ	-0,08	-0,45 *	WHOE	0,40 *	0,22
RGPQ	0,79 **	0,73 **	BLRO	0,12	0,00
RPRT	0,47 **	0,32	WACH	0,01	-0,02
RP1%	-0,44 *	-0,61 **	SZF1	0,24	0,24
RPS%	-0,45 *	-0,57 **	SZF2	0,47 **	0,51 **
NHI	0,15	0,52 **	SZF3	0,45 *	0,56 **
NUE	-0,34	-0,04	SPD0	-0,20	-0,25
TKGN	0,11	0,15	SPD1	-0,02	0,10
KZAE	0,05	0,08	SPD2	-0,17	-0,21
KZM2	0,13	0,17	SPD3	-0,24	-0,29
AEGW	0,16	0,26	BEST	0,04	0,06

<sup>1</sup> Abkürzungen siehe Tabellen 1-4  
 \*\*, \*, signifikant bei  $p \leq 0,01$  bzw.  $p \leq 0,05$

umlagern, im reifen Stroh war bei diesen der N-Gehalt geringer.

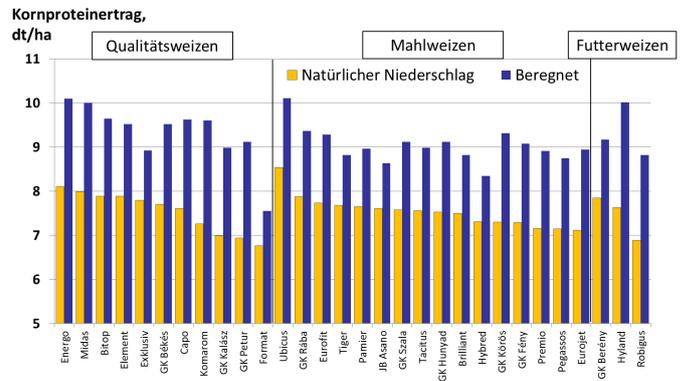
Strohertrag und Biomassertrag zur Blüte stehen in keiner Beziehung zur N-Effizienz der Sorten. Der N-Ernteindex steht unter guter Wasserversorgung in positivem Zusammenhang mit der N-Effizienz. Der N-Verwertungsindex, der als Maß für die Fähigkeit einer Pflanze gilt, mit dem aufgenommenen Stickstoff einen möglichst hohen Kornertrag zu erzielen, korrelierte nicht mit dem Kornproteinenertrag unabhängig vom Wasserangebot.

Für die Parameter Datum Ährenschieben, Datum Blüte, Datum Gelbreife und Dauer der Einkörnungsphase wurde ein Zusammenhang unter feuchteren Bedingungen festgestellt. Die Fahnenseneszenz zum zweiten und dritten Boniturtermin korrelierte unabhängig von der Wasserversorgung hoch mit der N-Effizienz. Als Erklärung für diese Zusammenhänge kann ebenfalls das ausgewählte Sortiment dienen. Das sporadisch auftretende Blattrollen sowie die Bereifung der Fahnensblätter hatten keinen Einfluss auf die N-Effizienz. Auch die Komponenten der Ertragsstruktur sowie die Chlorophyllwerte stehen rechnerisch in keiner Beziehung zum Proteinenertrag.

Die Qualitätsweizensorten mit der höchsten N-Effizienz waren 'Ergo', 'Midas' und 'Bitop'. 'Format' hatte die geringste N-Effizienz (Abbildung 1). Bei den Mahlweizen führten 'Ubcus', 'GK Rába' und 'Eurofit' das Sortiment an, 'Eurojet' hingegen war wenig N-effizient. Bei den Futterweizen lagen 'GK Berény' und 'Hyland' vor 'Robigus'.

#### Danksagung

Die Ergebnisse wurden im Rahmen des CORNET-Projekts *EFFICIENT WHEAT* erzielt, das in Österreich durch die FFG (Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft) und Saatgut Österreich finanziert wurde.



**Abbildung 1:** N-Effizienz von Winterweizen bei unterschiedlicher Wasserversorgung (2-3 Standorte, 2 Wasserversorgungsstufen, 2012-13)

**Figure 1:** N-efficiency of winter wheat varieties at different water supply levels (2-3 locations, 2 water supply levels, 2012-2013)

#### Literatur

AGES (2015) Österreichische Beschreibende Sortenliste 2015, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2015. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES), Wien.

AHRENS B, FORMAYER H, GOBIET A, HEINRICH G, HOFSTÄTTER M, MATULLA C, PREIN AF, TRUHETZ H (2014) Zukünftige Klimaentwicklung. In: Österreichischer Sachstandsbericht Klimawandel 2014 (AAR14). Austrian Panel on Climate Change (APCC), pp 301-346. Verlag Österr Akad Wiss, Wien.

BARESEL JP, REENTS HJ, ZIMMERMANN G (2003) Möglichkeiten der züchterischen Verbesserung der N-Effizienz bei Weizen im Ökologischen Landbau. In: Freyer B (Hrsg), Beiträge zur 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau – Ökologischer Landbau der Zukunft, pp 37-40. Univ Bodenkultur, Wien.

GAJU O, ALLARD V, MARTRE P, SNAPE JW, HEUMEZ E, LEGOUIS J, MOREAU D, BOGARD M, GRIFFITHS S, ORFORD S, HUBBART S, FOULKES MJ (2011) Identification of traits to improve the nitrogen-use efficiency of wheat genotypes. *Field Crop Res* 123: 139-152. DOI: 10.1016/j.fcr.2011.05.010

MAIDL FX, KLEMISCH M, WENZEL G (2000) Untersuchungen zur genotypischen Variation zur N-Effizienz von Wintergerste. *Initiativen zum Umweltschutz* 21: 85-96. Erich Schmidt Verlag, Berlin.

MOLL RH, KAMPRATH EJ, JACKSON WA (1982) Analysis and interpretation of factors which contribute to efficiency of nitrogen utilization. *Agron J* 74: 562-564. DOI: 10.2134/agronj1982.00021962007400030037

OBERFORSTER M, SCHMIDT L, WERTEKER M (1994) Bewertungsschema '94 der technologischen Qualität von Weizensorten (Weichweizen). *Jahrbuch* 1993, pp 257-280. Bundesanstalt für Pflanzenbau, Wien.

OBERFORSTER M, WERTEKER M (2005) Stickstoff-Effizienz als Parameter des Sortenwertes von Winterweizen. Bericht 60. ALVA-Jahrestagung, 23.-25. Mai, Linz, pp 108-112. Arbeitsgemeinschaft Lebensmittel- Veterinär- und Agrarwesen (ALVA), Wien.

SPANAKAKIS A, RÖBBELEN G (1990) Selektion auf erhöhtes Stickstoffaneignungsvermögen in einem Winterweizen-Zuchtprogramm. Bericht 41. Züchtertagung, 20.-22. Nov, Gumpenstein, pp 63-82. BAL Gumpenstein, Irdning.

SPANAKAKIS A (2000) Züchtung von Winterweizen mit verbesserter N-Effizienz. *Initiativen zum Umweltschutz* 21: 97-142. Erich Schmidt Verlag, Berlin.

## Entwicklung männlich-steriler Weizenlinien mit Hilfe von *Aegilops kotschy*-Cytoplasma und der Weizen-Roggen-Translokation 1BL·1RS

### *Production of male-sterile wheat lines using Aegilops kotschy-cytoplasm and the wheat-rye translocation 1BL·1RS*

Friedrich J. ZELLER\*

\* Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 6, 85354 Freising, Deutschland

(✉) fjzeller@yahoo.de

**Abstract** In the present study, the 'kotschy-translocation method' of production male-sterile wheat lines is being presented. 51 wheat cultivars possessing the wheat-rye translocation 1BL·1RS were introduced into *Aegilops kotschy* cytoplasm. After several backcross generations five cultivars showed almost complete pollen sterility. Backcrossed lines of 40 cultivars segregated in male sterile and male fertile lines. In the sterile lines the lack of the fertility restorer gene *Rfv1* which is located on the short arm of wheat chromosome 1B confers sterility. In the fertile cultivars one or several restorer genes that are not located on chromosome arm 1BS might be responsible for the pollen fertility. In the progenies of most backcross lines of 1BL·1RS cultivars haploid plants occurred. Only six cultivars did not produce any haploids. These cultivars and their progenies are suitable for the establishment of a hybrid wheat program.

**Keywords** 1BL·1RS translocation · cytoplasmic male sterile wheat · fertility restoration · haploids · *Triticum aestivum*

#### Einleitung

Vor mehr als 50 Jahren haben die beiden Amerikaner WILSON & ROSS (1962) zum ersten Mal zeigen können, dass das Cytoplasma des tetraploiden Weizens *Triticum timopheevi* im hexaploiden Saatweizen *T. aestivum* Pollensterilität hervorruft. Mit dieser Quelle für männliche Sterilität wurde daraufhin in vielen Instituten und Zuchtstationen weltweit gearbeitet. Die Restaurierung der Fertilität war jedoch unbefriedigend (WILSON 1968), sodass nach etwa drei Jahrzehnten die Untersuchungen zur Herstellung von Hybridweizen auf der Basis von *T. timopheevi*-Cytoplasma eingestellt wurden.

Fast zwei Jahrzehnte später schlugen die Japaner MUKAI & TSUNEWAKI (1979) vor, zur Herstellung von Pollensterilität in *T. aestivum* das Cytoplasma der tetraploiden, mit Weizen verwandten Wildart *Aegilops kotschy* zu verwenden. Sie fanden,

dass nach Einkreuzung von *Ae. kotschy*-Plasma in eine Weizensorte namens 'Salmon' männliche Sterilität hervorgerufen wird. Bei 'Salmon' handelt es sich um einen hexaploiden Weizen, der in der Nachkommenschaft der Kreuzung zweier oktaploider Triticalesorten selektiert worden ist (TSUNEWAKI 1964). In dieser Sorte liegt anstelle eines intakten Chromosomenpaares 1B eine Translokation zwischen dem langen Arm des Weizenchromosoms 1B (1BL) und dem kurzen Arm des Roggenchromosoms 1R (1RS) vor (ZELLER 1973). Diese 1BL·1RS-Translokation wurde 1972 erstmals auch in der europäischen Weizensorte 'Weique', die auf den Züchter Georg Riebesel zurückgeht, nachgewiesen (ZELLER & SASTROSUMARJO 1972). 'Weique' war mehrere Jahre in der Bundesrepublik Deutschland amtlich zugelassen. Die Translokation in 'Weique' ist unabhängig von 'Salmon' entstanden.

In der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) in Weihenstephan wurde in den 1960er Jahren die Weizensorte 'Zorba' entwickelt. 'Zorba' ist in der Nachkommenschaft einer Kreuzung mehrerer Weizensorten mit einer Triticalelinie entstanden und zeichnet sich durch sehr gute Resistenz gegenüber Mehltau, Braunrost, Gelbrost und Schwarzrost aus. Die Triticalelinie geht mit großer Wahrscheinlichkeit auf Georg Kattermann (Weihenstephan) zurück. Cytologische Untersuchungen haben ergeben, dass es sich bei 'Zorba' um eine (1B)1R-Substitutionssorte handelt, d.h. das Weizenchromosomenpaar 1B ist durch das Roggenchromosomenpaar 1R ersetzt worden (ZELLER & FISCHBECK 1971). Wegen seiner guten Krankheitsresistenz wurde 'Zorba' intensiv mit anderen Sorten gekreuzt. Unter anderen entstanden die Sorten 'Benno', 'Disponent', 'Kronjuwel' und 'Apollo'. Diese Sorten besitzen aber nicht mehr die komplette Chromosomensubstitution (1B)1R, sondern die 1BL·1RS-Translokation wie in 'Salmon' und 'Weique' (ZELLER 1973).

Unabhängig von 'Zorba' entstanden in den 1970er Jahren in Salzmünde (Sachsen-Anhalt) in der ehemaligen DDR die (1B)1R-Substitutionssorten 'Salzmünder Bartweizen' (ZELLER 1972) und 'Neuzucht'. Die Sorte 'Neuzucht' gelangte nach Krasnodar (Russland) und wurde dort in zahlreiche russische Sorten eingekreuzt. Aus diesen Kreuzungen gingen mehrere 1BL·1RS-Translokationssorten hervor. Die bekanntesten in der damaligen Sowjetunion und in Osteuropa angebaute Sorten waren 'Kavkaz', 'Aurora' (METTIN *et al.* 1973; ZELLER 1973) und 'Bezostaya-2', die auf den russischen Züchter Pavel P. Lukyanenko, Krasnodar, zurückgehen.

Noch heute ist die 1BL·1RS-Translokation in Europa, China, Indien, Pakistan und Südamerika weit verbreitet. Von den zugelassenen

Weizensorten in Deutschland besitzen zurzeit noch etwa 8% diese Translokation. In Indien sind es fast 25% (KANAKA DURGA, pers. Mitt.). In Westsibirien waren es im Jahre 2013 12,5% (MORGOUNOV *et al.* 2013), in Ungarn mehr als 33%, in der Ukraine ca. 5%, in Rumänien 22% (PURNHAUSER & BONA 2011), in Argentinien sind es etwa 24% (VANZETTI *et al.* 2011), in China sogar mehr als 40% (WANG *et al.* 2005; LI *et al.* 2011) der im Land zugelassenen Weizensorten.

Das *kotschy*-Plasma ruft nicht nur in 'Salmon', sondern auch in anderen Weizensorten mit der 1BL·1RS-Translokation Pollensterilität hervor. Die Restaurierung der Fertilität erfolgt durch das dominante Restorerger *Rfv1* (*Restoring fertility Ae. vavilovii*), das auf dem kurzen Arm des Chromosoms 1B (1BS) normaler Saatweizen lokalisiert ist (MUKAI & TSUNEWAKI 1979). Der genetische Abstand zwischen *Rfv1* und dem Centromer wurde auf 34 cM geschätzt (HAMAWAKI & MUKAI 1980). Sechs RFLP-Marker, die mit einem QTL für Restaurierung der Fertilität gekoppelt sind, wurden auf 1BS nachgewiesen (AHMED *et al.* 2001). Die beiden Wildarten *Ae. vavilovii* und *Ae. kotschyii* sind sehr nahe miteinander verwandt und besitzen das gleiche Cytoplasma (TOMAR *et al.* 2013).

Mit Hilfe der durch das Cytoplasma von *Ae. kotschy* und der 1BL·1RS-Translokation verursachten Pollensterilität sowie des Restorergens *Rfv1* schlugen TORYAMA *et al.* (1993) ein Zuchtsschema zur Herstellung von Hybridweizen vor. In der vorliegenden Untersuchung wurden neun Sommerweizen und 42 Winterweizen, welche die 1BL·1RS-Translokation besitzen, in *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingelagert und das Ausmaß der männlichen Sterilität beziehungsweise das Auftreten haploider Pflanzen bestimmt.

## Material und Methoden

Saatgut von 15 deutschen Weizensorten wurde von den entsprechenden Züchtern bezogen. Auf Grund der Anwesenheit des auf dem kurzen Arm des Roggenchromosoms 1R lokalisierten Gens *Pm8* für Resistenz gegen Mehltau wurde auf die 1BL·1RS-Translokation geschlossen. Eine Zusammenstellung der Gene für Mehltau-Resistenz wird in der Beschreibenden Sortenliste (BSL) des Bundessortenamtes, Hannover, jährlich publiziert. Da das Mehltau-Resistenzgen *Pm8* jedoch häufig unterdrückt wird (HANUSOVA *et al.* 1996), können mit Hilfe von *Pm8* nicht alle 1BL·1RS-Sorten erfasst werden. Auf dem Roggenchromosomenarm 1RS ist auch das Braunrost-Resistenzgen *Lr26* lokalisiert. Unter Verwendung molekularer Marker konnte dieses Gen neben anderen Resistenzgenen in zahlreichen deutschen Sorten identifiziert werden (SERFLING *et al.* 2011) und diente in der vorliegenden Arbeit als zusätzlicher Nachweis für die Anwesenheit der 1BL·1RS-Translokation. Einige Sorten wurden anhand des Allelkatalogs der Gliadin- und Glutenin-Elektrophorese-Bandenmuster der BSL identifiziert. Mehrere Sorten wurden cytologisch-mitotischen Untersuchungen unterzogen, um anhand der Anzahl Satelliten-tragender Chromosomen auf die Weizen-Roggen-Translokation schließen zu können. Mitosezellen mit vier Satelliten besitzen je zwei normale 1B- bzw. 6B-Chromosomen; solche mit nur zwei Satelliten (6B) liegen in 1BL·1RS-Translokationsorten vor (SASTROSUMARJO & ZELLER 1972). Auch die in der vorliegenden Arbeit verwendeten fünf polnischen Sorten, die Dr. K. Kowalczyk, Universität Lublin, zur Verfügung stellte (KOWALCZYK *et al.* 1998), wurden mit Hilfe der cytologischen Methode identifiziert. Vier in der Tschechischen Republik und vier in der Slowakei zugelassene Sorten wurden Resistenztests mit Hilfe eines Differentialsortiments von Braunrostisolaten (HANZALOVA *et al.* 2010, 2012) sowie der Elektrophorese ihrer HMW-Glutenin-Untereinheiten (GREGOVA *et al.* 2007; SRAMKOVA *et al.* 2010; GREGOVA & SLIKOVA 2012) unterzogen. Sechs aus Bulgarien stammende Translokationsorten wurden anhand der N-Banding-Färbemethode der Chromosomen, der Elektropherogramme ihrer Gliadinproteine

und mit Hilfe von DNA-Markern identifiziert (LANDJEVA *et al.* 2006). Vier russische Sorten aus Sibirien wurden zum Nachweis der Translokation einer *in situ*-Hybridisierung (GISH) der Chromosomen unterzogen (BELAN *et al.* 2011), drei weitere Sorten aus Russland (Krasnodar) wurden mit Hilfe molekularer Marker identifiziert (BESPALOVA *et al.* 2012). Eine Sorte aus Martonvasar (Ungarn) wurde mit Hilfe der C-banding-Methode, der *in situ*-Hybridisierung sowie der Elektrophorese der HMW-Glutenin-Untereinheiten als 1BL·1RS-Translokationen klassifiziert (KÖSZEGI *et al.* 2000; SVEC *et al.* 2002) und in der vorliegenden Arbeit untersucht. Drei Sorten, die Dr. Rosemary Bayles (NIAB, Cambridge) bereitstellte, stammen aus England. Drei weitere 1BL·1RS-Translokationsorten, die Dr. A. Schori, Changins-Wädenswil, zur Verfügung stellte (BRABANT *et al.* 2006), und eine Dinkelsorte von P. Kunz, Hombrechtikon, kamen aus der Schweiz, eine aus Österreich. Eine iranische Sorte, die mit Hilfe von PCR-Markern und SDS-PAGE identifiziert wurde, geht auf MIRZAGHADERI *et al.* (2011), TABIZADEH *et al.* (2013) und BAGHERIKIA *et al.* (2014) zurück. Auch zwei in Brasilien (Dr. P. Scheeren, EMBRAPA, Passo Fundo) und eine in Argentinien gezüchtete Sorte wurden in die Untersuchungen einbezogen (VANZETTI *et al.* 2011). Als cytoplasmatisch männlich sterile Mutterlinie (cms) wurde die Sorte 'Salmon', die in *Ae. kotschy*-Cytoplasma vorlag, verwendet. 'Salmon' stellte K. Tsunewaki (Kyoto) zur Verfügung gestellt.

## Ergebnisse und Diskussion

### 1BL·1RS-Sorten in *Ae. kotschy*-Plasma

In den Tabellen 1 bis 5 sind sämtliche, in der Arbeit untersuchten 1BL·1RS-Translokationsorten, ihre Herkunft, Rückkreuzungsgeneration (BC), ihr Wuchstyp (Sommer/Winter) und die Rate ihrer Samenfertilität bzw. -sterilität zusammengestellt. Sechs Sorten waren nach zwei bis fünf Rückkreuzungsgenerationen nahezu 100% männlich steril (Tabelle 1). 40 Sorten spalteten in solche, die hohe Sterilitätsraten bis zu 100% aufwiesen und solche, die noch männlich fertil waren. In neun Sorten trat auch nach mehreren Rückkreuzungen keine männliche Sterilität auf, sie hatten einen Kornansatz zwischen 37 und 98% (Tabelle 2). Der zum Teil hohe Kornansatz zahlreicher Weizen-Roggen-Translokationsorten in *Ae. kotschy*-Cytoplasma lässt vermuten, dass diese Sorten ein oder mehrere zusätzliche Restorergene besitzen, die nicht wie das *Rfv1*-Gen auf dem kurzen Arm des Weizenchromosoms 1B lokalisiert sind. Schon IKEGUCHI *et al.* (1999) berichteten, dass in einer japanischen Weizensorte, in welche die 1BL·1RS-Translokation und das *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingekreuzt worden waren, die Samenfertilität bei nahezu 100% lag. Die Autoren konnten die Wirkung eines zweiten Restorergens nachweisen. Die hohe Fertilität mehrerer Translokationsorten im Fremdplasma lässt darauf schließen, dass zusätzliche Restorergene für das *Ae. kotschy*-Cytoplasma im Weizenpool vorhanden sind. Darüber hinaus hat *Ae. kotschy*-Cytoplasma keinerlei negative Einflüsse auf agronomische Eigenschaften der weiblichen 1BL·1RS-Linien (MUKAI & TSUNEWAKI 1979).

Schon in den 1990er Jahren wurde in China der Vorschlag von MUKAI & TSUNEWAKI (1979) aufgegriffen und versucht, mit Hilfe der 1BL·1RS-Translokation in *Ae. kotschy*-Cytoplasma männlich-sterile Weizenlinien zu entwickeln (ZHANG 1998). Die Restaurierung der Fertilität war jedoch unbefriedigend (ZHANG *et al.* 2001). Dennoch wurde im Jahre 1996 die Hybridsorte XN901 in der Provinz Gansu amtlich zugelassen. Die Sorte zeichnet sich durch einen hohen Ertrag aus. Der Ertragszuwachs lag gegenüber konventionellen Sorten zwischen 10 und 28%. Ein Großteil der Assimilate verblieb jedoch ungenutzt in den noch grünen Stängeln und Blättern, während die Samen bereits abgereift waren (GONG *et al.* 2005). Die Sorte XN901 wurde nie kommerziell genutzt (J. Zhang, pers. Mitt.).

**Tabelle 1:** Prozentsatz männlicher Sterilität und Fertilität in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS-Weizen (W, Winter-; S, Sommerweizen; AR, Argentinien; AT, Österreich; BG, Bulgarien; BR, Brasilien; CH, Schweiz; CZ, Czech Republic; DE, Deutschland; FR, Frankreich; GB, Großbritannien; IR, Iran; PL, Polen; RU, Russland; SK, Slowakei)

**Table 1:** Percentage of male sterility and fertility in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS wheats (W, winter wheat; S, spring wheat; country codes according to ISO 3166)

Sorte	Wuchstyp	Herkunft	Backcross (BC)	Anzahl fertiler Pflanzen	Kornansatz (% ferti)	Anzahl steriler Pflanzen	% steril	Merkmal
Winnetou	W	DE	5	-	-	5	90-100	?
Expecto	W	DE	2	-	-	3	90-100	?
Tarso	W	DE	3	-	-	3	90-100	?
Helios	W	DE	3	-	-	4	90-100	?
Parrudo	S	BR	2 & 3	-	-	6	90-100	?
Brilliant	W	DE	3	8	17	14	90-100	spaltend
Campari	W	DE	2	4	17	10	90-100	spaltend
Carenius	W	DE	2 & 4	9	46	13	90-100	spaltend
Elegant	W	DE	2 & 3	9	69	17	90-100	spaltend
Lahertis	W	DE	2 & 4	10	82	25	90-100	spaltend
Joker	W	DE	3	1	81	5	90-100	spaltend
Pamier	W	DE	2 & 3	16	58	11	90-100	spaltend
Petrus	W	DE	2	2	19	13	90-100	spaltend
Turnia	W	DE	2	3	15	2	90-100	spaltend
Arbola	W	CH	1	9	1	3	90-100	spaltend
Profilus	W	GB	3 & 4	12	58	14	90-100	spaltend
Verita	W	SK	3	19	35	18	90-100	spaltend
Viglanca	W	SK	1	2	84	2	90-100	spaltend
Slawa	W	PL	2	11	62	3	90-100	spaltend
Satyna	W	PL	2 & 3	7	33	4	90-100	spaltend
Nadobna	W	PL	4	13	30	1	90-100	spaltend
Toronto	W	DE	2 & 3	23	30	14	90-100	spaltend
Mirage	W	FR,GB,DE	2	7	29	45	90-100	spaltend
Verita	W	SK	3	19	35	14	90-100	spaltend
Orlando	W	CZ	2 & 3	9	28	3	90-100	spaltend
Karjolan	W	BG	2	17	95	2	90-100	spaltend
Toronit	S	CH	2	-	-	3	90-100	?
Tirone	S	CH	3 & 5	11	64	4	90-100	spaltend
Samir (Dinkel)	W	CH	1 & 2	1	12	1	90-100	spaltend
Izyda	W	PL	2	2	2	2	90-100	spaltend
Irishka	W	RU	2	5	100	1	90-100	spaltend
Omskaya 29	S	RU	3 & 4	15	59	14	90-100	spaltend
Omskaya 37	S	RU	3 & 4	25	68	3	90-100	spaltend
Omskaya 38	S	RU	2 & 3	14	64	3	90-100	spaltend
Veta	W	RU	2	3	46	-	-	?
Borjana	W	BG	2	13	96	2	90-100	spaltend
Kristal	W	BG	2	5	100	3	90-100	spaltend
Enola	W	BG	2	4	76	1	90-100	spaltend
Clarus	W	CZ	2	5	64	2	90-100	spaltend
Etelo	W	CZ	3	2	100	-	-	?
Escudo	S	AR	1	3	50	1	90-100	spaltend
Relay	W	GB	1	1	100	2	90-100	spaltend
Atrak	S	IR	2 & 3	6	67	-	-	?
Amadeus	W	AT	2	6	37	7	90-100	spaltend
Petrana	W	SK	2	1	37	-	-	?
Gavilan	S	AR	3	2	32	1	90-100	spaltend

### Auftreten haploider Pflanzen

Ein Problem bei der Entwicklung männlich-steriler Linien im *Ae. kotschy*-Cytoplasma durch Rückkreuzung mit dem Maintainer ist das Auftreten haploider Pflanzen. KOBAYASHI & TSUNEWAKI (1980) untersuchten den genetischen Mechanismus bei der Entstehung Haploider in den Nachkommenschaften der 1BL-1RS-Sorte

**Tabelle 2:** Prozentsatz männlicher Fertilität in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS-Weizen (Abkürzungen siehe Tabelle 1)

**Table 2:** Percentage of male in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS wheats (abbreviations see Table 1)

Sorte	Wuchstyp	Herkunft	Backcross (BC)	Pflanzen (n)	% ferti Kornansatz
Berthold	W	DE	2	3	98
Forum	W	DE	2	2	17
Kardam	W	BG	2	12	51
Murgavets	W	BG	2	4	79
Bonita	W	CZ	2	4	75
Gaivota	S	BR	2	1	40
Magdalena	W	HU	2	2	80
Tonacja	W	PL	1 & 2	5	67
Kavkas	W	RU	2 & 3	11	78

‘Salmon’ in *Ae. kotschy*-Plasma und fanden, dass ein oder mehrere Gene auf dem Translokationschromosom 1BL-1RS die hohe Rate Haploider verursacht. In der Nachkommenschaft von Kreuzungen der Sorte ‘Salmon’ im *Ae. kotschy*-Cytoplasma wurden haploide Pflanzen in einer Häufigkeit von mehr als 20% gefunden (TSUNEWAKI & MUKAI 1990). Eigene Untersuchungen zur Haploidenrate von ‘Salmon’ im *Ae. kotschy*-Cytoplasma ergaben mit 34% einen noch höheren Wert. In der Nachkommenschaft von Kreuzungen einer europäischen 1BL-1RS-Sorte im *Ae. kotschy*-Cytoplasma, die in Japan durchgeführt wurden, traten dagegen nur etwa 4% Haploide auf (IKEGUCHI *et al.* 1999). In der vorliegenden Arbeit lag der Anteil Haploider in zehn untersuchten Rückkreuzungsnachkommenschaften zwischen 4% (‘Brilliant’) und 27 % in der polnischen Sorte ‘Nadobna’ (Tabelle 3).

Weitere Untersuchungen ergaben, dass in der russischen Sorte ‘Kavkas’ und in der deutschen Sorte ‘Helios’, in die *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingekreuzt worden war, nach drei bzw. vier Rückkreuzungen so gut wie keine Haploiden auftraten (Tabelle 4). Darüber hinaus wurden auch in vier russischen Sorten, die ‘Kavkas’ in ihrer Abstammung haben, wie ‘Omskaya 27’, ‘Omskaya 29’, ‘Omskaya 38’ und ‘Omskaya 41’ keine Haploiden gefunden (Tabelle 4). In ‘Kavkas’-Rückkreuzungslinien sind bislang jedoch

**Tabelle 3:** Anzahl und Prozentsatz haploider Pflanzen in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS-Weizen

**Table 3:** Number and percentage of haploid plants in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS wheats

Sorte	Herkunft	Backcross (BC)	Anzahl untersuchter Individuen	Anzahl Haploider	% Haploider
Certo	DE	2	10	2	20
Brilliant	DE	3	68	3	4
Elegant	DE	3	57	5	9
Toronto	DE	3	64	10	16
Winnetou	DE	3	64	6	9
Carenius	DE	3	67	12	16
Verita	SK	3	63	12	17
Mirage	GB,FR,DE	2	51	10	20
Profilus	GB	2	48	7	15
Nadobna	PL	3	18	5	27

**Tabelle 4:** Anzahl haploider Pflanzen in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS-Weizen

**Table 4:** Number of haploid plants in (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS wheats

Sorte	Herkunft	Backcross (BC)	Anzahl untersuchter Individuen	Anzahl haploider Pflanzen
Kavkas	RU	3	120	1
Omskaya 29	RU	4	24	0
Omskaya 37	RU	5	34	0
Omskaya 38	RU	2 & 4	64	0
Omskaya 41	RU	2	16	0
Helios	DE	3	129	1

**Tabelle 5:** F<sub>1</sub>-Nachkommen der Kreuzung von (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS-Linien × normale Weizen

**Table 5:** F<sub>1</sub> progeny of crosses derived from (*Ae. kotschy*)-1BL-1RS lines × non-1BL-1RS wheat

Kreuzung	BC des weiblichen Partners	Anzahl untersuchter Individuen	Anzahl haploider Pflanzen	% Haploider
(k) Elegant × Discus	3	74	11	14
(k) Toronto × Discus	3	50	11	22
(k) Brilliant × Julius	3	24	7	29
(k) Brilliant × Julius	3	117	0	0
(k) Omsk 37 × Potenzial	4	33	0	0
(k) Omsk 38 × Julius	3	35	0	0

nur männlich-fertile Linien aufgetreten (Tabelle 2), während in den Rückkreuzungen der Sorten 'Helios' und 'Omskaya 38' (Tabelle 1) zahlreiche männlich-sterile Pflanzen nachgewiesen worden sind. Wahrscheinlich wird das Auftreten oder die Unterdrückung der Produktion haploider Pflanzen sehr einfach vererbt. In F<sub>1</sub>-Bastarden von Rückkreuzungslinien der Sorten 'Omskaya 37' und 'Omskaya 38' mit den normalen Weizensorten 'Potenzial' und 'Julius' wurden nämlich keine Haploiden beobachtet (Tabelle 5), während in der F<sub>1</sub> der Kreuzungen der Sorten 'Elegant' und 'Toronto' in *Ae. kotschy*-Plasma mit der normalen Sorte 'Discus' Haploide in hohem Maße auftraten (Tabelle 5). Bei der Sorte 'Brilliant', die in ihrer Abstammung 'Kavkas' enthält, wurden zwei Linien gefunden. Die eine produziert zu einem hohen Prozentsatz haploide Pflanzen, die andere zeigt keine Haploiden in Kreuzungen mit der normalen Sorte 'Julius' (Tabelle 5). Die Sorten 'Helios', 'Omskaya 37' und 'Omskaya 38' sowie deren Nachkommenschaften und die Sorte 'Brilliant' eignen sich daher für die Herstellung von Hybrid-Weizen. Dies trifft wahrscheinlich auch für viele Sorten des Internationalen Zentrums zur Verbesserung von Mais und Weizen (CIMMYT) in Mexiko zu, die Genmaterial mit Einkreuzungen der Sorte 'Kavkas' enthalten und in China, Indien, den Mittleren Osten und in Lateinamerika eingeführt worden sind.

### Schlussfolgerungen

Die vorliegende Untersuchung hat gezeigt, dass in Weizensorten, welche die 1BL-1RS-Translokation besitzen, Pollensterilität induziert werden kann, wenn sie in *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingelagert werden. Das Restorerger *Rfv1* ist in normalen Weizenentoty-

pen natürlicherweise vorhanden. Es muss nicht erst in die entsprechenden Sorten eingekreuzt werden. Falls das *Rfv1*-Gen zur vollen Wiederherstellung der Fertilität nicht ausreicht, stehen im natürlichen Sortenspektrum weitere Restorergerne zur Verfügung, wie die Untersuchungen zur Samenfertilität mehrerer die 1BL-1RS Translokation tragender Sorten in *Ae. kotschy*-Cytoplasma ergeben haben. Das Auftreten haploider Pflanzen bei der Erhaltung der Maintainerlinien ist in Kreuzungen der Mehrzahl der cms-1BL-1RS Translokationslinien mit normalen Weizensorten ein Problem. In zehn Rückkreuzungslinien lag der Prozentsatz Haploider zwischen 4.4 und 26.6%. Einige wenige Sorten produzierten jedoch keine Haploiden und zeigten gleichzeitig männliche Sterilität. Diese Sorten und ihre Nachkommenschaften eignen sich für ein Programm zur Herstellung von Hybridweizen.

### Danksagung

Der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Weihenstephan, sei herzlich dafür gedankt, dass sie Gewächshausflächen und eine Vernalisationskammer zur Verfügung stellte. Besonderer Dank gebührt Dr. Lorenz Hartl (LfL) und seinen Mitarbeitern Adalbert Bund und Sabine Schmidt für die Unterstützung der Arbeit durch Sachmittel, Saatgut und vielerlei Hilfen.

### Literatur

- AHMED TA, TSUJIMOTO H, SASAKUMA T (2001) QTL analysis of fertility-restoration against cytoplasmic male sterility in wheat. *Genes Genet Syst* 76: 33-38. DOI: 10.1266/ggs.76.33
- BAGHERIKIA S, KARIMZADEH G, NAGHAVI MR (2014) Distribution of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in *Triticum aestivum* using specific PCR. *Biochem Syst Ecol* 55: 20-26. DOI: 10.1016/j.bse.2014.02.001
- BELAN IA, ROSSEVA LP, TRUBACHEVA NV, OSADCHAYA TS, DOROGINA OV, ZHMUD EV, KOLMAKOV YV, BLOKHINA NP, KRATSOVA LA, PERSHINA LA (2011) Important agronomic traits of Omskaya 37 lines of spring wheat cultivar carrying wheat-rye translocation 1RS.1BL. *Russ J Genet Appl Res* 1: 241-247. DOI: 10.1134/S2079059711030038
- BESPALOVA LA, VASILYEV AV, ABLOVA IB, FILOBOK VA, KHUDOKORMOVA ZN, DAVOYAN RO, DAVOYAN ER, KARLOV GI, SOLOVIEV AA, DIVASHUK MG, MAYER NK, DUDNIKOV MV, MIRONENKO NV, BARANOVA OA (2012) The use of molecular markers in wheat breeding at the Lukyanenko Agricultural Research Institute. *Russ J Genet Appl Res* 2: 286-290. DOI: 10.1134/S2079059712040028
- BRABANT C, FOSSATI D, KLEIJER G (2006) Die Sommerweizenzüchtung in der Schweiz. *Agrarforschung* 13: 240-247.
- GONG YH, ZHANG Y, GAO JF, LU JY, WANG JR (2005) Slow export of photoassimilate from stay-green leaves during late-grain filling stage in hybrid winter wheat (*Triticum aestivum* L.). *J Agron Crop Sci* 191: 292-299. DOI: 10.1111/j.1439-037X.2005.00173.x
- GREGOVA E, MIHALIC D, SLIKOVA S, SRAMKOVA Z (2007) Allelic variation of HMW glutenin subunits and 1BL.1RS translocation in Slovak common wheats. *Cereal Res Commun* 35: 1675-1683. DOI: 10.1556/CRC.35.2007.4.14
- GREGOVA E, SLIKOVA S (2012) Determination of the wheat-rye translocation 1BL.1RS among registered bread wheat varieties of Slovakia. *J Microbiol Biotechnol Food Sci* 1: 616-621.
- HAMAWAKI H, MUKAI Y (1980) Telocentric mapping of the fertility-restoring gene *Rfv1* against *Aegilops variabilis* cytoplasm in wheat. *Jpn J Genet* 55: 453.
- HANUSOVA R, HSAM SLK, BARTOS P, ZELLER FJ (1996) Suppression of powdery mildew resistance *Pm8* in common wheat cultivars carrying wheat-rye translocation 1BL.1RS. *Heredity* 77: 383-387. DOI: 10.1038/hdy.1996.157
- HANZALOVA A, HUSZAR J, HERZOVA E, BARTOS P (2010) Physiologic specialization of wheat leaf rust (*Puccinia triticina* Eriks.) in the Slovak Republic in 2005, 2006 and 2008. *Czech J Genet Plant Breed* 46: 114-121.
- HANZALOVA A, SUMIKOVA T, HUSZAR J, BARTOS P (2012) Physiologic specialization of wheat leaf rust (*Puccinia triticina* Eriks.) in the Slovak Republic in 2009-2011. *Czech J Genet Plant Breed* 48: 101-107.
- IKEGUCHI S, HASEGAWA A, MURAI T, TSUNEWAKI K (1999) Basic studies on hybrid wheat breeding using the 1BL-1RS translocation chromosome/*Aegilops kotschy* cytoplasm system. 1. Development of male sterile and maintainer lines with discovery of a new fertility-restorer. *Euphytica* 109: 33-42. DOI: 10.1023/A:1003689100815

- KOBAYASHI M, TSUNEWAKI K (1980) Haploid induction and its genetic mechanism in alloplasmic common wheat. *J Hered* 71: 9-14.
- KÖSZEGI B, LINC G, JUHASZ A, LANG L, MOLNAR-LANG M (2000) Occurrence of the 1RS/1BL wheat-rye translocation in Hungarian wheat varieties. *Acta Agron Hung* 48: 227-236.
- KOVALCZYK K, HSAM SLK, ZELLER FJ (1998) Identification of powdery mildew resistance genes in common wheat (*Triticum aestivum* L. em Thell.). XI. Cultivars grown in Poland. *J Appl Genet* 39: 225-236.
- LANDJEVA S, KORZUN V, TSANEV V, VLADOVA R, GANEVA G (2006) Distribution of the wheat-rye translocation 1RS.1BL among the bread wheat varieties of Bulgaria. *Plant Breed* 125: 102-104. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2006.01142.x
- LI HJ, WANG XM, SONG TJ, WU CB, WU XF, ZHANG N, ZHOU Y, ZHANG XY (2011) Response to powdery mildew and detection of resistance genes in wheat cultivars. *Acta Agron Sin* 37: 943-954. DOI: 10.1016/S1875-2780(11)60026-6
- MENZIES JG (2004) The reaction of Canadian spring wheat genotypes to inoculation with *Claviceps purpurea*, the causal agent of ergot. *Can J Plant Sci* 84: 625-629. DOI: 10.4141/P03-086
- METTIN D, BLÜTHNER WD, SCHLEGEL G (1973) Additional evidence on spontaneous 1B/1R wheat-rye substitutions and translocations. In: Sears ER, Steinitz LM (eds), *Proc 4<sup>th</sup> Int Wheat Genet Symp*, 6-11 Aug, Columbia, MO, pp 179-184.
- MIRZAGHADERI G, ZEINALI G, RAPHIEPUR M, KARIMZADEH G (2011) Wheat-rye translocation in Iranian bread wheat cultivars and their ion distribution in response to salinity stress. *J Agr Sci Tech* 13: 1163-1172.
- MORGOUNOV, A.I, BELAN I, ZELENSKIY Y, ROSEVA L, TÖMÖSKÖZY S, BEKES F, ABUGALIEVA A, CAKMAK I, VARGAS M, CROSSA J (2013) Historical changes in grain yield and quality of Spring wheat varieties cultivated in Siberia from 1900 to 2010. *Can J Plant Sci* 93: 425-433. DOI: 10.4141/cjps2012-091
- MUKAI Y, TSUNEWAKI K (1979) Basic studies on hybrid wheat breeding. VIII. A new male sterility-fertility restoration system in common wheat utilizing the cytoplasm of *Aegilops kotschy* and *Ae. variabilis*. *Theor Appl Genet* 54: 153-160. DOI: 10.1007/BF00263045
- PURNHAUSER L, BONA L (2009) Detection of *Sr31* and *Sr36* stem rust resistance genes by molecular markers in wheat cultivars registered in Hungary. *Res J Agr Sci* 41: 319-322.
- SERFLING A, KRÄMER I, LIND V, SCHLIEPHAKE E, ORDON F (2011) Diagnostic value of molecular markers for *Lr* genes and characterization of leaf rust resistance of German winter wheat cultivars with regard to the stability of vertical resistance. *Eur J Plant Pathol* 130: 559-575. DOI: 10.1007/s10658-011-9778-2
- SRAMKOVA Z, GREGOVA E, SLIKOVA S, STURDIK E (2010) Wheat varieties released in Slovakia and their bread-making quality. *Cereal Res Commun* 38: 386-394. DOI: 10.1556/CRC.38.2010.3.9
- SVEC M, SZUNICS L, MIKLOVICOVA M, SLOVAKOVA T, TISOVA V, HAUPTVOGEL P (2002) Identification of genes for resistance to wheat powdery mildew in Hungarian, Polish and Slovak wheat cultivars. *Plant Protect Sci* 38: 64-72.
- TABIBZADEH N, KARIMZADEH G, NAGHAVI MR (2013) Distribution of 1AL.1RS and 1BL.1RS wheat-rye translocations in Iranian wheat using PCR based markers and SDS-PAGE. *Cereal Res Commun* 41: 458-467. DOI: 10.1556/CRC.2013.0023
- TOMAR RSS, DESHMUKH RK, NAIK KB, TOMAR SM, VINOD (2013) Development of chloroplast-specific microsatellite markers for molecular characterization of alloplasmic lines and phylogenetic analysis in wheat. *Plant Breed* 133: 12-18. DOI: 10.1111/pbr.12116
- TORIYAMA K, TSUNEWAKI K, NONAKA S, SHIMADA T (1993) A breeding scheme proposed for hybrid wheat utilizing male sterility induced by the interaction between an *S<sup>w</sup>* type cytoplasm and a 1BL-1RS chromosome. *Jpn J Breed* 43: 517-524. DOI: 10.1270/jsbbs1951.43.517
- TSUNEWAKI K (1964) Genetic studies of a 6x-derivative from an 8x-triticale. *Can J Genet Cytol* 6: 1-11. DOI: 10.1139/g64-001
- TSUNEWAKI K, MUKAI Y (1990) Wheat haploids through the Salmon method. In: BAJAJ YPS (ed), *Wheat, Biotechnology in Agriculture and Forestry* 13, pp 460-478. Springer Verlag, Berlin. DOI: 10.1007/978-3-662-10933-5\_25
- VANZETTI EL, Campos P, Demichelis M, Lombardo LA, Aurelia PR, Vaschetto LM, Bainotti CT, Helguera M (2011) Identification of leaf rust resistance genes in selected Argentinean bread wheat cultivars by gene postulation and molecular markers. *Elect J Biotechnol* 14: 14. DOI: 10.2225/vol14-issue3-fulltext-14
- WANG Z.L, LI LH, HE ZH, DUAN XY, ZHOU YL, CHEN XM, LILLEMO M, SINGH RP, WANG H, XIA XC (2005) Seedling and adult plant resistance to powdery mildew in Chinese bread wheat cultivars and lines. *Plant Dis* 89: 457-463. DOI: 10.1094/PD-89-0457
- WILSON JA (1968) Problems in hybrid wheat breeding. *Euphytica Suppl* 1: 13-33.
- WILSON JA, ROSS WM (1962) Male sterility interaction of *Triticum aestivum* nucleus and *Triticum timopheevi* cytoplasm. *Wheat Inf Serv* 14: 29-30.
- ZELLER FJ (1972) Cytologischer Nachweis einer Chromosomensubstitution in dem Weizenstamm Salzmünde 14/44 (*T. aestivum* L.) *Z Pflanzenzüchtg* 67: 90-94.
- ZELLER FJ (1973) 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations. In: Sears ER, Steinitz LM (eds), *Proc 4<sup>th</sup> Int Wheat Genet Symp*, 6-11 Aug, Columbia, MO, pp 209-222.



## Linkage mapping of the restorer gene *Rf3* in winter wheat and spelt wheat

Manuel GEYER\*, Volker MOHLER\*, Theresa ALBRECHT\*, Adalbert BUND\*, Lorenz HARTL\*

\* Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 6, 85354 Freising, Germany

(✉) manuel.geyer@lfl.bayern.de

**Abstract** Since its discovery, the CMS hybrid system based on the sterility inducing cytoplasm of *Triticum timopheevii* has been most promising for a profitable hybrid wheat production. Incomplete fertility restoration is still the most important barrier associated with this CMS system. Previous studies showed that the combination of different sources of fertility restoration in one restorer line leads to an equal or superior restoration capacity compared to the parental restorer sources. According to that, we hypothesise that stacking of major restorer genes in an elite restorer line will accomplish full restoration of fertility in CMS hybrids.

To estimate the restoration capacity of a restorer line, it is necessary to determine the selfed seed set of  $F_1$  plants derived from the cross between the CMS and the restorer line. However, in the process of breeding an elite restorer line recurrent phenotyping is hardly feasible. In order to complement this time-consuming technique, marker-assisted selection (MAS) is an appropriate method for rapid transfer of restorer genes into elite breeding material. Although several restorer genes were localized by linkage mapping, currently there is no published molecular marker available that is linked closely enough to a restorer gene to meet the demands of MAS. To fill this gap, we genetically mapped the highly effective restorer gene *Rf3* which was originally discovered on chromosome 1B of *T. spelta* var. *duhamelianum* and later mapped on the short arm of the same chromosome using wheat cultivar 'Primepi'.

Based on the CMS/maintainer line 'Sperber' and the restorer line 'Primepi', we developed a mapping population comprising 198  $BC_1$  plants (CMS/restorer//maintainer). As a measure for fertility restoration, we determined the seed set of four bagged spikes for each individual. While the fertile plants showed a mean seed set of 1.58 seeds per spikelet, 46% of the progeny revealed no seed set at all, which implies a monogenic inheritance and a dominant gene action of the restorer gene of 'Primepi'. Using SSR markers,

the restorer gene was mapped on the short arm of chromosome 1B. Individuals showing recombinations between *Rf3* and the flanking marker loci *Xbarc128* and *Xwmc406* were subsequently genotyped with a proprietary 15k SNP chip. We identified three SNP markers closely linked to *Rf3*. Whereas two of them were cosegregating, one SNP was located 2 cM distal from *Rf3*. The three SNP markers were converted to CAPS markers and validated by genotyping the whole mapping population. Applying the developed CAPS markers to a diversity panel suggested diagnostic ability for one of them. The two cosegregating CAPS markers were further validated using two  $F_2$  populations derived from crosses between the CMS line 'Sperber' and the spelt varieties 'Holstenkorn' and 'Zollernspelz', respectively. Fertility restoration was inherited in a dominant monogenic manner in both populations. The two CAPS markers were closely linked to *Rf3* in  $F_2$ :(Sperber/Holstenkorn) and  $F_2$ :(Sperber/Zollernspelz). The newly developed CAPS markers can be used for marker-assisted selection, thereby accelerating the development of superior restorer lines for CMS hybrid seed production.

**Keywords** Hybrid wheat · molecular marker · *Triticum aestivum* · *Triticum spelta*

### Acknowledgement

This work was funded by the Bavarian Research Foundation. We thank Sabine Schmidt, Ruth Torrijos and Petra Greim for their excellent technical assistance.

### Further reading

JOHNSON JW, PATTERSON FL (1977) Interaction of genetic factors for fertility restoration in hybrid wheat. *Crop Sci* 17: 695-699. DOI: 10.2135/cropsci1977.0011183X001700050005x

MA Z-Q, SORRELLS ME (1995) Genetic analysis of fertility restoration in wheat using restriction fragment length polymorphisms. *Crop Sci* 35: 1137-1143. DOI: 10.2135/cropsci1995.0011183X003500040037x

TAHIR CM, TSUNEWAKI K (1969) Monosomic analysis of *Triticum spelta* var. *duhamelianum*, a fertility-restorer for *T. timopheevii* cytoplasm. *Jpn J Genet* 44: 1-9. DOI: 10.1266/jjg.44.1



## Detection of new flowering time genes in wheat: Their effects within near-isogenic lines

Martina TRÁVNÍČKOVÁ\*<sup>§</sup>, Kateřina PÁNKOVÁ\*, František HNILIČKA<sup>§</sup>

\* Crop Research Institute, Drnovská 507, 161 06 Prague, Czech Republic

<sup>§</sup> Czech University of Life Sciences Prague, Kamýcká 129, 165 21 Prague, Czech Republic

(✉) [travnickova@vurv.cz](mailto:travnickova@vurv.cz)

**Abstract** Bread wheat (*Triticum aestivum* L., 2n=6x=42, AABBDD) is a main staple food for about 30% of the world's population. Population growth and climate change due to global warming request new wheat cultivars with increased and more stable grain yields. Flowering time of wheat is an important trait for adaptation resulting from a complex action and interaction of genes responsible for vernalization requirement (*Vrn*), photoperiod sensitivity (*Ppd*) and earliness *per se* (*Eps*).

The first objective of the present study was to analyse the effect of a novel allele *Vrn-B1c* that is widely distributed among Eastern European and Russian spring wheat cultivars on wheat growth and development. Spring wheat cultivars 'Granny' carrying the new *Vrn-B1c* allele, and 'Trappe' carrying *Vrn-B1a*, seem to have the other main genes for flowering time identical, and differ in flowering under field conditions by 4 to 6 days. They were used as parental cultivars for the development of near-isogenic lines (NILs) by backcrossing. The possible ancestor of *Vrn-B1c* in 'Granny' was determined as 'Garnet'. The second objective was to clarify the nature of 11 day difference in heading time between 'Paragon' and 'Kärntner Früher' (KF). There was no difference in the main flowering time genes (*Ppd-A1*, *Ppd-D1*, *Vrn-A1*, *Vrn-B1*, *vrn-D1*), so it might be hypothesised that a new allele is involved. Both cultivars were crossed and the mapping population was developed. The explanation for the difference between 'Paragon' and KF could be in *Ppd-B1* gene; especially in copy number variation (CNV). The results confirmed the ability of KF to flower in short days and 'Paragon' as a late flowering cultivar. Our results correspond with other studies in which an increased CNV of *Ppd-B1* caused early and/or day neutral heading time.

**Keywords** Adaptation · earliness *per se* · heading · photoperiod · *Triticum aestivum* · vernalization

### Acknowledgement

The research has received funding from the European Union Seventh Framework Programme ADAPTAWHEAT under grant agreement n° 289842 (FP7-KBBE-2011-5), from Ministry of Agriculture project n° MZe RO-0415 and from S grant of Ministry of Education, Youth and Sports of Czech Republic.

### Further reading

DÍAZ A, ZIKHALI M, TURNER AS, ISAAC P, LAURIE DA (2012) Copy number variation affecting the *photoperiod-B1* and *vernalization-A1* genes is associated with altered flowering time in wheat (*Triticum aestivum*). PLoS One 7: e33234. DOI: 10.1371/journal.pone.0033234

MILEC Z, SUMÍKOVÁ T, TOMKOVÁ L, PÁNKOVÁ K (2013) Distribution of different *Vrn-B1* alleles in hexaploid spring wheat germplasm. Euphytica 192: 371-378. DOI: 10.1007/s10681-013-0863-9

WORLAND T, SNAPE JW (2001) Genetic basis of worldwide wheat varietal improvement. In: Bonjean AP, Angus WJ (Eds), The world wheat book. A history of wheat breeding, Vol 1, pp 59-100. Lavoisier Publishing, Paris.



## Wissensbasierte Nutzung der Biomasse von Hybridroggen: Vom Phänotyp zum QTL

### *Knowledge-based usage of biomass in hybrid rye: From phenotype to QTL*

Thomas MIEDANER\*, Stefan HAFFKE\*, Marlen GOTTWALD\*, Andreas SEGGL\*,  
Silvia KOCH\*, Steffen ROUX<sup>§</sup>, Bernd HACKAUF<sup>§</sup>, Barbara KUSTERER<sup>‡</sup>, Franz J. FROMME<sup>‡</sup>,  
Brigitta SCHMIEDCHEN<sup>#</sup>, Peer WILDE<sup>#</sup>

\* Landessaatzuchtanstalt, Universität Hohenheim, Fruwirthstr. 21, 70593 Stuttgart, Deutschland

<sup>§</sup> Julius Kühn-Institut, Instiut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, Rudolf-Schick-Platz 3a, 18190 Sanitz, Deutschland

<sup>‡</sup> Hybro GmbH & Co KG, Kleptow 53, 17291 Schenkenberg, Deutschland

<sup>#</sup> KWS Lochow GmbH, Ferdinand-von-Lochow-Str. 5, 29303 Bergen, Deutschland

(✉) miedaner@uni-hohenheim.de

**Abstract** Winter rye is an attractive crop as substrate for biogas production. Mean values of biomass yield were similar for rye and triticale in the official VCU trials in Germany in 2015. We aimed to estimate quantitative-genetic parameters and quantitative trait loci (QTL) in diverse rye materials for biomass yield and related traits. We analyzed genetic resources for population *per se* and testcross performance (exp. 1) and a biparental population of 258 testcrosses (exp. 2) across seven environments. Genotypic variances for biomass yield were significant ( $P < 0.01$ ) in both experiments. Estimates of entry-mean heritability were high for plant height and moderate for yield traits. The genotypic correlation between biomass and grain yield among the testcross progeny was moderate ( $r_g = 0.53$ ), but high between biomass yield and plant height measurements ( $r_g = 0.7-0.9$ ). Accordingly, common QTL for plant height and biomass yield were found. Indirect selection for high dry matter yield using plant height resulted in a higher expected gain per cycle than using direct selection for biomass yield (1.9 dt/ha vs. 1.5 dt/ha). The observed broad genetic variation for biomass yield in elite hybrid rye gives good prospects for the use as a resource of renewable energy.

**Keywords** Biogas substrate · dry matter yield · genetic resources · marker-assisted selection · *Secale cereale* · testcrosses

### Einleitung

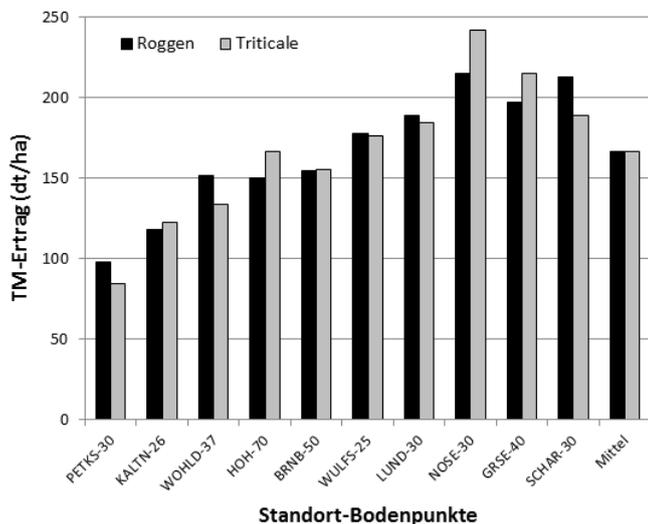
Roggen (*Secale cereale* L.) hat sich bei der Biogasgewinnung einen festen Platz behauptet und ist inzwischen nach Mais die wichtigste Kultur für diesen Zweck; rund 30% des Roggens werden in Deutschland für die Produktion von Biogas zur Strom- und Wärmegewinnung eingesetzt. Dabei hat sich gezeigt, dass sich die Genotypen nicht signifikant im Methangehalt unterscheiden (HÜBNER *et al.* 2011), so dass das wichtigste Zuchtziel eine maximale Biomassebildung zum Zeitpunkt der frühen Milchreife ist.

Roggen und Triticale ( $\times$ *Triticosecale* Wittm.) haben ähnliche Trockenmasse (TM)-Erträge (Abbildung 1). Dies zeigte sich auch im Jahr 2015, als einige Orte unter erheblichem Trockenstress litten. Unter guten Bedingungen können selbst auf leichteren Standorten (30-40 Bodenpunkte) TM-Erträge von >200 dt/ha erreicht werden. An fünf von zehn Standorten schnitt Winterroggen besser ab, an den anderen Wintertriticale. Dabei fanden sich keine eindeutigen Beziehungen zur Ertragsleistung des Standortes. Zwar war an dem Trockenheitstress-Standort Petkus (PETKS) Roggen im Vorteil, aber auch auf dem hoch produktiven Standort Scharnhorst (SCHAR) hatte Roggen eine höhere Biomasseleistung. Im Mittel ergab sich ein marginaler Unterschied von 0,5 dt/ha zugunsten des Wintertriticale.

Ziel unserer Untersuchungen war (1) die Möglichkeit der Nutzung Genetischer Ressourcen zu evaluieren (Exp. 1), (2) die Erarbeitung wichtiger zuchtmethodischer Parameter und (3) die QTL-Analyse der Biomassebildung und sekundärer Merkmale (Exp. 2).

### Material und Methoden

Alle Versuche wurden mehrortig und mehrjährig auf Leistungsprüfungspartellen (ca. 5 m<sup>2</sup>) in entsprechenden Gitteranlagen durchgeführt. In Experiment 1 wurden 25 Genetische Ressourcen unterschiedlicher Herkunft mit 34 adaptierten Vollgeschwisterfamilien der KWS LOCHOW (Bergen) hinsichtlich ihrer Trockenmassebildung verglichen. Alle Populationen wurden in Eigen- und Testkreuzungsleistung mit zwei cytoplasmatisch-männlich sterilen (CMS) Einfachkreuzungen als Tester an sieben Umwelten (Ort-Jahr-Kombinationen) in zwei Wiederholungen geprüft (MIEDANER *et al.* 2010). Experiment 2 bestand aus einer biparentalen Nach-



**Abbildung 1:** Mittelwerte des Trockenmasse (TM)-Ertrages des jeweils besten Winterroggen- und Wintertriticale-Genotyps an zehn Standorten (Wertprüfung Bundessortenamt 2015)

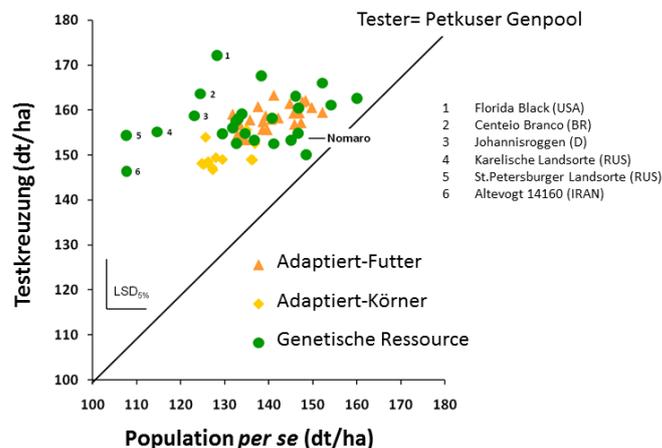
**Figure 1:** Means of dry matter yield of the best hybrid rye and hybrid triticale genotype at ten locations (Official VCU trials 2015)

kommenschaft von 258 Restorer  $S_4$ -Linien der HYBRO Saatzucht, die mit einer CMS-Einfachkreuzung (Nicht-Restorer) als Tester verpaart wurde und an ebenfalls sieben Umwelten in zwei Wiederholungen auf Korn- und Biomasseleistung geprüft wurden (HAFFKE *et al.* 2014). Die Kornerträge werden mit 14% Wassergehalt, die Trockenmasseerträge mit 0% Wassergehalt berichtet. Die statistische Analyse der phänotypischen Daten wurde in zwei Schritten mit PLABSTAT (UTZ 2010) durchgeführt: (1) Einzelverrechnung: Für jeden Ort wurde eine Gitteranalyse durchgeführt, (2) Serienverrechnung über Umwelten mit Hilfe der adjustierten Gittermittelwerte (BLUEs). Die QTL-Analyse wurde mit PLABMQTL (UTZ 2014) auf der Basis von 789 DaRT-Markern durchgeführt. Es ergab sich eine Kartenlänge von 964 cM mit einer durchschnittlichen Markerdichte von 1.06 cM (HAFFKE 2015).

## Ergebnisse und Diskussion

### Nutzung von Genetischen Ressourcen

Bei Roggen gibt es eine große Zahl von Genetischen Ressourcen (Landsorten, alte Sorten, ausländische Sorten) aus vier Kontinenten. Wir versuchten, sie unmittelbar für die Biomassegewinnung zu nutzen, indem sie als Bestäuber für zwei lange, standfeste Elite-Einfachkreuzungen dienen (Abbildung 2). Einige Genetischen Ressourcen zeigten Heterosis für Trockenmasseertrag, d.h. sie wichen erheblich von der Winkelhalbierenden ab. Die Populatio-



**Abbildung 2:** Mittelwerte des Trockenmasse-Ertrages von 25 Genetischen Ressourcen, 22 adaptierten Futter- und 12 adaptierten Körnerroggenpopulationen für die Leistung der Population *per se* und der korrespondierenden Testkreuzungen, gemittelt über sieben Umwelten

**Figure 1:** Means of dry matter yield of 25 genetic resources, 22 adapted forage populations and 12 adapted grain populations for their *per se* and testcross performance averaged across seven environments

nen mit geringer Eigenleistung hatten häufig eine hohe Heterosis. Einige dieser Populationen hatten eine signifikant höhere Testkreuzungsleistung als adaptierte Körnerroggen.

### Zuchtmethodische Aspekte und QTL-Analysen

Eine Untersuchung von 258 Testkreuzungen ergab für die Wuchshöhe zu drei Messzeitpunkten (BBCH 32, 51-55, 73) hohe und für die beiden Ertragsmerkmale mittlere Heritabilitäten (Tabelle 1).

Die Merkmale waren alle mit dem TM-Ertrag korreliert, die höchsten Koeffizienten fanden sich für Wuchshöhe zum Termin 2 und Termin 3. Es wurden in der Population je nach Merkmal 2 bis 12 QTL detektiert, die zusammen 10-61% der Varianz (kreuzvalidiert) erklärten. Dabei gab es bei einigen Merkmalen eine Übereinstimmung der QTL sowohl für Kornertrag als auch für TM-Ertrag. Zwischen Kornertrag und TM-Ertrag gab es jedoch keine übereinstimmenden QTL, was die relativ geringe Korrelation zwischen den Merkmalen erklärt ( $r_{gen}=0,53$ ). Die höchste Korrelation und die meisten übereinstimmenden QTL gab es zwischen der Wuchshöhe zum Termin 2 und dem TM-Ertrag. Eine indirekte Selektion mit diesem Merkmal ergibt einen höheren erwarteten Selektionsgewinn als die direkte Selektion auf TM-Ertrag (1,9 vs. 1,5 dt/ha). Ursache dafür ist die deutlich höhere Heritabilität für Wuchshöhe zum Termin 2 als für den TM-Ertrag. Ein QTL auf Chromosom 2R, das den TM-Ertrag um 3,32 dt/ha erhöhte, könnte für eine

**Tabelle 1:** Mittelwerte, Heritabilitäten ( $h^2$ ), genetische Korrelationen zwischen dem Trockenmasse (TM)-Ertrag und anderen Merkmalen ( $r_{gTM}$ ), Anzahl QTL und kreuzvalidierter Anteil der gesamten erklärten Varianz ( $R^2_{cv}$ ) sowie Anzahl übereinstimmender QTL ( $\cap$  QTL) der Merkmale mit Kornertrag und TM-Ertrag für 258 Testkreuzungsnachkommen

**Table 1:** Means, heritabilities ( $h^2$ ), genetic correlations between dry matter yield and other traits ( $r_{gTM}$ ), number of QTL, cross-validated proportion of total explained variance ( $R^2_{cv}$ ) and number of trait QTL coincident with grain (KE) or dry matter (TM) yield ( $\cap$  QTL) for 258 testcross progenies

Merkmal	Mittel	$h^2$	$r_{gTM}$	Anzahl QTL	$R^2_{cv}$ (%)	$\cap$ QTL	
						KE	TM
Ährenschieben (1-9)	5,93	0,67	0,62 <sup>++</sup>	7	41,7	1	1
Wuchshöhe 1 (cm)	35,9	0,76	0,52 <sup>++</sup>	4	19,6	0	1
Wuchshöhe 2 (cm)	90,7	0,92	0,89 <sup>++</sup>	2	51,7	1	2
Wuchshöhe 3 (cm)	137,1	0,94	0,72 <sup>++</sup>	12	61,0	0	1
Kornertrag (KE, dt/ha)	97,6	0,52	0,54 <sup>++</sup>	3	23,9	-	0
TM-Ertrag (dt/ha)	169,8	0,49	-	3	10,3	0	-
TKG (g)	35,9	0,88	-	10	38,5	1	0

<sup>++</sup> Schätzwert größer als sein doppelter Standardfehler

markergestützte Selektion interessant sein. Dasselbe QTL erhöhte auch die Wuchshöhe bei Termin 2 um 4,3 cm und bei Termin 3 um 3,8 cm. Dies zeigt, wie wichtig eine gleichzeitige Selektion auf hohe Standfestigkeit ist. Da die Ernte schon im späten Milchreifstadium erfolgt, ist dies jedoch kein prinzipielles Problem.

### Schlussfolgerungen und züchterische Konsequenzen

Für die Nutzung der Biomasse bei Hybridroggen ergeben sich aus diesen Arbeiten, die sich über sieben Jahre erstreckten, wesentliche Schlussfolgerungen:

- Winterroggen hat ein großes Potenzial zur Bioenergienutzung
- Methanertrag ist kein Zielkriterium, stattdessen: Trockenmasse (TM)-Ertrag
- Einige Genetische Ressourcen haben eine überlegene Testkreuzungsleistung und können unmittelbar als Bestäuber von langen, standfesten Testern genutzt werden
- Kornertrag erlaubt nur eine ungenügende Vorhersage des TM-Ertrages (s.a. ROUX *et al.* 2010)
- Selektion auf größere Wuchshöhe ermöglicht einen erwarteten indirekten Selektionsgewinn für TM-Ertrag von 1,9 dt je Hektar und Zyklus
- Standfestigkeit muss zusätzlich selektiert werden

Darüber hinaus zeigte eine weitere Studie (MIEDANER *et al.* 2012), dass auch in breitem Elite-Zuchtmaterial eine vielversprechende Variation für TM-Ertrag besteht, die kurzfristig genutzt werden kann. Insgesamt ergibt sich daraus ein zweistufiges Selektionschema als optimale Zuchtstrategie. Bei der frühen Selektion auf Testkreuzungsleistung kann die Wuchshöhe als indirektes Selektionskriterium für TM-Ertrag dienen. Dies ermöglicht die Einsparung einer eigenen Parzellenanlage für die Feststellung des TM-Ertrages. Auf der späteren Stufe sollte jedoch zur Verifikation eine Selektion auch auf TM-Ertrag stattfinden. Die gefundene genetische Korrelation zwischen Korn- und TM-Ertrag von  $\rho=0,54$  schließt nicht aus, dass einzelne Genotypen in beiden Merkmalen überlegen sind. Dementsprechend gibt es in der deutschen Beschreibenden Sortenliste (BSA 2015) einige Sorten, die für beide Zwecke zugelassen sind. Demnach kann eine Züchtung auf höheren TM-Ertrag gezielt und mit hoher Effizienz durchgeführt werden, was die Eignung von Winterroggen als Substrat für die Biogas-Anlage unterstreicht.

### Danksagung

Die Autoren bedanken sich für die hervorragende technische Unterstützung der Teams an den einzelnen Standorten. Dieses Projekt wurde finanziell vom Bundesministerium für Bildung und Forschung (BMBF, FKZ 0315445) und den Züchtungsfirmen HYBRO Saatzucht GmbH & Co. KG und KWS LOCHOW GmbH unterstützt.

### Literatur

BSA (2015) Beschreibende Sortenliste. Getreide, Öl- und Faserpflanzen, Leguminosen, Rüben, Zwischenfrüchte. Bundessortenamt (BSA), Hannover.

HAFFKE S (2015) Quantitative-trait loci (QTL) mapping of important agronomical traits of the grain and biomass production in winter rye (*Secale cereale* L.). PhD thesis, Univ Hohenheim, Stuttgart. [[http://opus.uni-hohenheim.de/frontdoor.php?source\\_opus=1119&la=de](http://opus.uni-hohenheim.de/frontdoor.php?source_opus=1119&la=de); accessed 8 Mar 2016]

HAFFKE S, KUSTERER B, FROMME FJ, ROUX S, HACKAUF B, MIEDANER T (2014) Analysis of covariation of grain yield and dry matter yield for breeding dual use hybrid rye. *BioEnergy Res* 7: 424-429. DOI: 10.1007/s12155-013-9383-7

HÜBNER M, OECHSNER H, KOCH S, SEGGL A, HRENN H, SCHMIEDCHEN B, WILDE P, MIEDANER T (2011) Impact of genotype, harvest time and chemical composition on the methane yield of winter rye for biogas production. *Biomass Bioenerg* 35: 4316-4323. DOI: 10.1016/j.biombioe.2011.07.021

MIEDANER T, KOCH S, SEGGL A, SCHMIEDCHEN B, WILDE P (2012) Quantitative genetic parameters for selection of biomass yield in hybrid rye. *Plant Breed* 131: 100-103. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2011.01909.x

MIEDANER T, HÜBNER M, KOCH S, SEGGL A, WILDE P (2010) Biomass yield of self-incompatible germplasm resources and their testcrosses in winter rye. *Plant Breed* 129: 369-375. DOI: 10.1111/j.1439-0523.2010.01777.x

ROUX SR, WORTMANN H, SCHLATHÖLTER M (2010) Züchterisches Potenzial von Roggen (*Secale cereale* L.) für die Biogaserzeugung. *J Kulturpfl* 62: 173-182.

UTZ HF (2010) PLABSTAT - A computer program for statistical analysis of plant breeding experiments. Institute of Plant Breeding, Seed Science and Population Genetics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.

UTZ HF (2014) PlabMQTL - Software for meta-QTL analysis with composite interval mapping. Version 0.9. Institute of Plant Breeding, Seed Science, and Population Genetics, University of Hohenheim, Stuttgart, Germany.



## Stripe and stem rust – an increasing risk for wheat growing?

Kerstin FLATH\*, Nicole SOMMERFELDT-IMPE\*

\* Julius Kühn-Institut, Institute for Plant Protection in Field Crops and Grassland, Stahnsdorfer Damm 81, 14532 Kleinmachnow, Germany

(✉) kerstin.flath@jki.bund.de

**Abstract** Wheat growing is worldwide affected by stripe (yellow) and stem rust epidemics since the late 1990s. In Central Europe we faced epidemics of stripe rust with increasing intensity in the last three years (2013-15) caused by favorable weather (warm winter and early, warm spring), growing of susceptible cultivars on large acreages, and a new race (*i.e.* Warrior) originating from the Himalaya region. In stem rust, a local epidemic was observed in parts of North and East Germany in 2013. This pathogen might increase in importance with rising summer temperatures. Our objectives were to (i) analyse both rust populations for their race composition and (ii) evaluate recommended winter wheat cultivars for their resistance to both rusts.

In stripe rust, Warrior is dominating the population in whole Europe including Germany and Austria with about 80% and 64% incidence in 2015, respectively. This race is highly aggressive for wheat and triticale and virulent for 12 out of the 15 resistance genes tested. Only *Yr5*, *Yr15* and *Yr24* are still displaying full resistance with a frequency of virulent races below 2%. Most winter wheat cultivars with high stripe rust resistance (rating 1-2 on the 1-9 scale) stayed resistant, but some spectacular changes occurred. For example, cultivars 'Discus' and 'Matrix' being resistant in 2010-12 are now rated by 5.5 and 8. And the widely used moderately resistant (4.2) cultivar 'JB Asano' got highly susceptible (8). In contrary, 'Tobak' and 'Meister' got more resistant illustrating the impact of a new race with wide occurrence.

Stem rust in Germany was analysed by 90 samples collected in 2013 mainly in Lower Saxony and Saxony-Anhalt. Six main races could be identified by collaboration with USDA-ARS Cereal Disease Laboratory. Races TKTTF (35% incidence) and TKKTF (43%) were most frequently found.

They are not belonging to the worldwide monitored Ug99 group, but TKTTF is also highly aggressive being previously reported from epidemics in Turkey, Southwest Asia, and Africa ('Digelu race'). This race has 21 virulences to the most commonly used stem rust resistance genes. Our analyses showed that in Germany and Austria *Sr26*, *Sr31*, *Sr33* and four additional resistance sources are still effective. By artificial infection in 2014 it could be shown that winter wheat cultivars grown on 66% and 16% of the German acreage were moderately and highly susceptible to stem rust, respectively. From the more commonly grown cultivars, only 'Anapolis', 'Pamier', 'Rebell' and 'Memory' were resistant (1-2).

In conclusion, rusts should be managed primarily by growing resistant cultivars. They do not afford fungicide application even in years with high epidemics. Susceptible cultivars in contrast must be sprayed already when first symptoms are visible. In experiments in 2014 and 2015 the susceptible 'JB Asano' showed yield reductions till 60% in the untreated control plots due to stripe rust. Additionally, volunteer plants must be destroyed early before sowing by appropriate soil management. It cannot be excluded that stem rust might get more importance also in Central Europe in future. heading time.

**Keywords** *Puccinia graminis* · *Puccinia striiformis* · resistance genes · *Triticum aestivum* · yield loss

### Further reading

FLATH K, SOMMERFELDT-IMPE N, KLOCKE B (2016) Gelbrost richtig bekämpfen. DLG-Mitteilungen 3: 66-69.

MIEDANER T, FLATH K, THATE A (2015) Roste bekämpfen. Sortenresistenz und Fungizidstrategien bei Getreide. DLG Verlag, Frankfurt/M.



## Molecular analysis of resistance genes to leaf rust in winter wheat cultivars registered in the Czech Republic

Taťána SUMÍKOVÁ\*, Alena HANZALOVÁ\*, Pavel BARTOŠ\*

\* Crop Research Institute, Drnovská 507, 161 06 Prague 6-Ruzyně, Czech Republic

(✉) sumikova@vurv.cz

**Abstract** The presence of leaf rust resistance genes *Lr10*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr34* and *Lr37* was tested in 67 winter wheat cultivars registered in the Czech Republic by means of molecular markers. The majority of cultivars contain *Lr37* which was found in 23 cultivars, followed by *Lr10* (14 cultivars), *Lr26* (5 cultivars) and *Lr34* (4 cultivars). Resistance gene *Lr24* was present only in cultivar 'Carroll' and *Lr28* was not detected in the present nursery.

**Keywords** Molecular marker · *Puccinia triticina* · resistance · *Triticum aestivum*

### Introduction

Leaf rust, caused by *Puccinia triticina* Eriks., is a common and important disease of wheat (*Triticum aestivum* L.). In the Czech Republic leaf rust occurs regularly every year and can cause considerable yield losses. The most economic control of wheat leaf rust is breeding for resistance. Knowledge of resistance genes in wheat varieties and of the local leaf rust population structure enables to estimate the risk of infestation of different varieties by virulent races of leaf rust. Nowadays molecular genetics yield a great progress in the analysis of resistance genes. Various molecular markers have been used to map leaf rust resistance genes (*Lr* genes) and can be used in a process of marker assisted selection (MAS). We used six published molecular markers for the detection of resistance genes *Lr10*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr34* and *Lr37* in a set of winter wheat varieties registered in the Czech Republic.

### Material and methods

#### PCR assays

DNA of 67 winter wheat cultivars registered in the Czech Republic was extracted from second leaves using Qiagen DNA extraction kit. The leaf rust resistance genes *Lr10*, *Lr24*, *Lr26*, *Lr28*, *Lr34* and *Lr37* were identified by published primers marking these genes (GULTYAEVA et al. 2009, GUPTA et al. 2006, DE FROIDMONT 1998, CHERUKURI et al. 2005, LAGUDAH et al. 2006, HELGUERA et al. 2003). The PCR reactions were carried out in thermal cycler Veriti (Applied Biosystems). Amplification products were separated by electrophoresis in 2% agarose gels, stained with ethidiumbromide, visualized under UV light and compared with molecular weight marker GeneRuler™ 100 bp DNA Ladder (Fermentas). Near isogenic *Triticum aestivum* lines containing the corresponding *Lr* genes in 'Thatcher' background were used as a positive control and sterile water was used as a negative control (two positive and two negative control samples per reaction) (Table 1).

### Results and discussion

One or more leaf rust resistance genes were detected by molecular markers in 33 from 67 tested wheat varieties (Table 2). In the majority of the tested cultivars the gene *Lr37* was found (23 cultivars), followed by *Lr10* (14 cultivars), *Lr26* (5 cultivars) and *Lr34* (4 cultivars). Resistance gene *Lr24* was present only in one cultivar ('Carroll'), and *Lr28* was not detected in any tested cultivar. Combinations of two genes were detected in 12 cultivars and cv. 'Rapsodia' possessed three resistance genes (*i.e.* *Lr37*, *Lr26*, *Lr10*).

The most frequently detected resistance gene was *Lr37*, conferring adult plant resistance to leaf rust. It was found in 12 cultivars alone and in 11 cultivars in combination - the most often with the gene *Lr10* (cvs. 'Bakfis', 'Biscay', 'Chevallier', 'Jindra', 'Mulan', 'Potenzial', 'Rapsodia'). Gene *Lr37* was identified in cvs. 'Apache' and 'Corsaire' (1999) and in many cultivars registered after 2001 *e.g.* 'Clarus', 'Nicol' or 'Elly' (SUMÍKOVÁ & HANZALOVÁ 2010,

**Table 1:** Chromosome location, amplification conditions and length of PCR products for detected resistance genes.

Gene	Chromosome location/source	Amplification conditions	PCR product
<i>Lr10</i>	1AS, wheat	94°C for 3 min; 40 cycles of 94°C for 30s, 58°C for 30s, 72°C for 45s; 72°C for 10min	310 bp
<i>Lr24</i>	3DL, <i>Thinopyrum ponticum</i> 4AL, <i>Aegilops speltoides</i>	95°C for 2min; 36 cycles of 94°C for 60s, 60°C for 60s, 72°C for 60s; 72°C for 7min	607 bp
<i>Lr28</i>			570 bp
<i>Lr26</i>	1BS, <i>Secale cereale</i>	94°C for 3 min; 35 cycles of 94° for 30s, 58°C for 30s, 72°for 45s;	412 bp
<i>Lr37</i>	2AS, <i>Aegilops ventricosa</i>	72°C for 10 min	262 bp
<i>Lr34</i>	7DS, wheat	5 cycles of 94°C for 1min; 55°C for 1min, 72°C for 2min; 30 cycles of 94°C for 30s, 55°C for 30s, 72°C for 50s; 1 cycle of 94°C for 30s, 55°C for 30s; 72°C for 5 min	150 bp

**Table 2:** Winter wheat cultivars registered in the Czech Republic and their composition of leaf rust resistance genes.

Resistance gene	Cultivar (Year of release)
<i>Lr10</i>	Bagou (2010); Iridium (2009); Pitbull (2008); Secese (2009); Seladon (2009)
<i>Lr26</i>	Etela (2006)
<i>Lr34</i>	Astella (1995); Svitava (2001)
<i>Lr37</i>	Aladin (2010); Altigo (2011); Apache (1999); Bodyček (2010); Dagmar (2012); Dromos (2006); Golem (2011); Graindor (2011); Ilias (2003); Manager (2007); Matylda (2011); RW Nadal (2010)
<i>Lr10+Lr24</i>	Carroll (2011)
<i>Lr10+Lr26</i>	Brilliant (2009)
<i>Lr10+Lr37</i>	Bakfis (2008); Biscay (2005); Chevalier (2011); Jindra (2010); Mulan (2007); Potenzial (2012)
<i>Lr26+Lr37</i>	Orlando (2008); Vanessa (2013)
<i>Lr34+Lr37</i>	Beduin (2011); Sultan (2008)
<i>Lr10+Lr26+Lr37</i>	Rapsodia (2003)

HANZALOVÁ *et al.* 2013). In the Czech Republic, *Lr37* lost its effectiveness around 2010 (HANZALOVÁ *et al.* 2014).

The gene *Lr10* was originally described in wheat cultivars 'Lee' and 'Timstein', from Czech varieties in cv. 'Siria' (BLAŽKOVÁ *et al.* 2002). It is not so effective itself, but it is used in combination with other resistance genes. Here we identified *Lr10* in five cultivars and in nine cultivars in combinations with all other tested genes, except the genes *Lr28* and *Lr34*.

The gene *Lr26* is located on a rye translocation *1BL.1RS* together with resistance genes to stem rust (*Sr31*), stripe rust (*Yr9*) and powdery mildew (*Pm8*). The translocation is no longer effective against leaf rust in the Czech Republic. Despite this fact the *1BL.1RS* translocation is used in wheat breeding to enhance the yield of cultivars and in combination with other resistance genes (such as *Lr37*), the gene *Lr26* may provide a sufficient level of field resistance (MORENO-SEVILLA & BAENZIGER 1995). Combination of genes *Lr37* and *Lr26* was detected in cvs. 'Orlando' and 'Vanessa', combination of genes *Lr10* and *Lr26* in cv. 'Brilliant', all three mentioned genes in cv. 'Rapsodia' and only the gene *Lr26* in cv. 'Etela'.

The gene *Lr34* also confers adult plant resistance and its effectivity may be enhanced by combination with other genes. Cv. 'Beduin' and 'Sultan' amplified specific products showing the presence of genes *Lr34* and *Lr37*. The gene *Lr24* was found only in cv. 'Carroll', together with the gene *Lr10*. Virulence frequency to this gene was very low in current pathotype surveys and cv. 'Carroll' has displayed high field resistance, that can be ascribed to the gene *Lr24* (HANZALOVÁ *et al.* 2013). The most effective resistance genes are *Lr24* and *Lr28*. Other detected resistance genes have limited effectivity against the prevailing current virulent races of leaf rust in the Czech Republic.

#### Acknowledgement

The work was supported by the project no. QJ1210189 of Ministry of Agriculture of the Czech Republic.

#### References

- BLAŽKOVÁ V, BARTOŠ P, PARK RF, GOYEAU H (2002) Verifying the presence of leaf rust resistance gene *Lr10* in sixteen wheat cultivars by use of a PCR-based *STS* marker. *Cereal Res Commun* 30: 9-16.
- CHERUKURI DP, GUPTA SK, CHARPE A, KOUL S, PRABHU KV, SINGH RB, HAQ QMR (2005) Molecular mapping of *Aegilops speltoides* derived leaf rust resistance gene *Lr28* in wheat. *Euphytica* 143: 19-26. DOI: 10.1007/s10681-005-1680-6
- DE FROIDMONT D (1998) A co-dominant marker for the *1BL/1RS* wheat-rye translocation via multiplex PCR. *J Cereal Sci* 27: 229-232. DOI: 10.1006/jcrs.1998.0194
- GULTYAEVA EI, KANYUKA IA, ALPATEVA NV, BARANOVA OA, DMITRIEV AP, PAVLYUSHIN VA (2009) Molecular Approaches in Identifying Leaf Rust Resistance Genes in Russian Wheat Varieties. *Plant Industry* 35: 316-319. DOI: 10.3103/S1068367409050085
- GUPTA SK, CHARPE A, KOUL S, HAQUE QMR, PRABHU KV (2006) Development and validation of SCAR markers co-segregating with an *Agropyron elongatum* derived leaf rust resistance gene *Lr24* in wheat. *Euphytica* 150: 233-240. DOI: 10.1007/s10681-006-9113-8
- HANZALOVÁ A, BARTOŠ P, SUMÍKOVÁ T (2013) Physiological specialization of wheat leaf rust (*Puccinia triticina* Eriks.) in the Czech Republic in 2009-2011. *Czech J Genet Plant Breed* 49: 103-108.
- HANZALOVÁ A, BARTOŠ P (2014) Virulence surveys of wheat leaf rust in the Czech Republic and resistance genes in registered cultivars. *Czech J Genet Plant Breed* 50: 241-246.
- HELGUERA M, KHAN IA, KOLMER J, LIJAVETZKY D, ZHONG-GI L, DUBCOVSKY J (2003) PCR assays for the *Lr37-Yr17-Sr38* cluster of rust resistance genes and their use to develop isogenic hard red spring wheat lines. *Crop Sci* 43: 1839-1847. DOI: 10.2135/cropsci2003.1839
- MORENO-SEVILLA B, BAENZIGER PS (1995) The *1BL/1RS* translocation: Agronomic performance of  $F_3$ -derived lines from a winter wheat cross. *Crop Sci* 35: 1051-1055. DOI: 10.2135/cropsci1995.0011183X003500040022x
- LAGUDAH ES, MCFADDEN H, SINGH RP, HUERTA-ESPINO J, BARIANA HS, SPIELMEYER W (2006) Molecular genetic characterization of the *Lr34/Yr18* slow rusting resistance gene region in wheat. *Theor Appl Genet* 114: 21-30. DOI: 10.1007/s00122-006-0406-z
- SUMÍKOVÁ T, HANZALOVÁ A (2010) Multiplex PCR Assay to Detect Rust Resistance Genes *Lr26* and *Lr37* in Wheat. *Czech J Genet Plant Breed* 46: 85-89.

## Initial steps in the development of a quantitative and qualitative test method for detection of wheat bunt diseases (*Tilletia* spp.) by means of Real-Time PCR assays

Monika GRUNDLER\*, Monika SEDLMEIER\*, Benno VOIT\*, Berta KILLERMANN\*,  
Ludwig NIESSEN<sup>§</sup>

\* Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Lange Point 6, 85354 Freising, Germany

§ Technische Universität München, Lehrstuhl für Technische Mikrobiologie, 85354 Freising, Germany

(✉) monika.grundler@lfl.bayern.de

**Abstract** Seed health testing includes the examination of the soil- and seed-borne pathogens common bunt (*Tilletia caries* (DC) Tul. or *T. laevis* Kühn) and dwarf bunt (*T. controversa* Kühn) of wheat. In seed multiplication as well as for international seed trading different thresholds and quarantine regulations have to be considered and therefore reliable testing methods are required. At present determination of the teliospores is carried out according to the ISTA Working Sheet No 53. For this microscopy method lots of experience is necessary in order to distinguish the different *Tilletia* species. The aim of this research project is to develop an efficient molecular testing method by means of quantitative Real-time PCR (qPCR) for a reliable qualitative and quantitative determination of the closely related *Tilletia* species, ideally as multiplex qPCR.

Separated bunt balls from *T. caries* and *T. controversa* infested wheat ears collected from field trials in Germany and Austria as well as *T. laevis* bunt balls provided from Utah State University, USA were used for the first genetic analyses. After a morphological verification of the teliospores the gDNA was isolated by commercially available Kits. Common bacterial and fungal microsatellite and phylogenetic markers were used by standard PCR amplification and agarose gel electrophoresis to detect relevant gene regions useable for the development of species specific primers and probes. Additionally adapted unspecific primers of further known smut and bunt (*Ustilaginales*) genes like Pra3.1F/Pra3.4R were analyzed. After detecting species related differences in the band pattern promising gene regions were sequenced and aligned.

With the common markers highly conserved gene regions could be detected comparing the three analyzed species. *T. caries*, *T. laevis* and *T. controversa* are known to be closely related despite their more or less obvious morphological differences and distinct effects on wheat (stunted

growth induced by dwarf bunt). Furthermore band patterns and sequences of amplicons are often not homogenous or reproducible within one species by analyzing several strains. Nevertheless few uniform differences between the species could be observed for example by the amplification of *pra3* (pheromone receptor a3) with Pra3.1F/Pra3.4R. Based on the resulting *pra3* sequences optimized primers were designed. Amplification with the new primer pair a-Pra3in could only be detected in all samples of common bunt but not in samples of dwarf bunt. After the first promising results further investigations also revealed amplicons in another collected *T. controversa* strains. Further research work has to be done and alternative approaches like genome sequencing must be considered to find optimal gene regions to develop species specific primers and probes.

**Keywords** Pheromone receptor a3 · *Tilletia caries* · *Tilletia controversa* · *Tilletia laevis* · *Triticum aestivum*

### Acknowledgements

We thank Robert Bauer of the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL) for collecting and separating the infested ears and Dave Hole (Utah State University, USA) for providing material. The joint analyzing of the numerous markers by our collaboration partners of the Epidemiology and Pathogen Diagnostics Institute of the Federal Research Center for Cultivated Plants (JKI) in particular Somayyeh Sedaghatjoo is gratefully acknowledged. This project is funded within the framework of the Federal Organic Farming Scheme and other forms of sustainable agriculture (BÖLN) by the Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL) based on a decision of the German Federal Parliament.

### Further reading

ISTA (1984) Working sheet No 53, *Triticum aestivum*, *Tilletia controversa* Kühn, *T. caries* (DC) Tul., *T. foetida* (Wallr.) Liro. ISTA Handbook on Seed Health Testing, Int Seed Testing Ass (ISTA) Zürich.

KELLNER R, VOLLMEISTER E, FELDBRÜGGE M, BEGEROW D (2011) Interspecific sex in grass smuts and the genetic diversity of their pheromone-receptor system. PLoS Genet 7: e1002436. DOI: 10.1371/journal.pgen.1002436

VÁNKY K (2012) Smut fungi of the world. APS Press, St. Paul, MN.



## Möglichkeiten zur Einschätzung der Triebkraft bei Gemüseerbsen (*Pisum sativum* L.)

### Estimation of seed vigour of green peas (*Pisum sativum* L.)

Benno VOIT\*, Susanne MOSCH\*, Berta KILLERMANN\*

\* Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Lange Point 6, 85354 Freising, Deutschland

(✉) benno.voit@lfl.bayern.de

**Abstract** Green peas are sown at the end of March to the beginning of April. The sowing rate is calculated by means of germination values. Due to the very early sowing date the seed's behaviour under cold conditions is important to know. Two test methods are available, the conductivity test according to ISTA rules and the so called 'vigour test FS' which is a slightly modified maize vigour test according to the ISTA handbook. Eleven green pea (*Pisum sativum* L.) samples with different seed quality have been tested and the results of both methods are discussed. For nine samples both methods showed approximately the same results. For two samples having average germination values significant differences between the results of the two methods became obvious. In the conductivity test both samples achieved good results, *i.e.* they can be used for early sowing or sowing under unfavorable conditions. Concerning the low vigour results both samples are not suitable for early sowing. In both samples the conductivity test overestimated the vigour as it is hardly probable that samples having only moderate germination values do have excellent vigour values. As a conclusion it is recommended to be critical in the case of seed samples having good conductivity values but only moderate germination values.

**Keywords** Conductivity test · germination test · vigour test

#### Einleitung

Die Produktion der Gemüseerbsen (*Pisum sativum* L.) geht fast ausschließlich in die Konservenindustrie. Die Ware wird entweder zu Nasskonserven oder gefrosteter Ware verarbeitet. Die Ernte erfolgt maschinell mit dem Vollernter. Gemüseerbsen werden sehr zeitig, Ende März oder Anfang April, ausgesät. Dies ist möglich, weil Erbsen Fröste bis  $-6^{\circ}\text{C}$  vertragen. Die frühe Aussaat ist zur Ausschöpfung des Ertragspotenzials erforderlich, da die Erbsen mit dem einsetzenden Langtag in die generative Phase übergehen. Deshalb wird beim Kurztag die Bildung von möglichst viel vegetativer Masse angestrebt. Damit dies gelingt, ist ein rascher und gleichmäßiger Feldaufgang erforderlich. Dazu ist neben der Keimfähigkeit auch die Kenntnis der Triebkraft ein entscheidendes Kriterium für die Berechnung der Aussaatmenge. Erst mit Hilfe der Triebkraft kann eine Abschätzung vorgenommen werden, ob das Saatgut für die frühe Aussaat geeignet ist. Eine

hohe Rohstoffqualität läßt sich nur mit gleichmäßig und lückenlos auflaufenden Beständen erreichen. Ungleichmäßig auflaufende und lückige Bestände führen neben Ertragsverlusten zu einer ungleichmäßigen Abreife und damit zur schwierigen Entscheidung des richtigen Druschzeitpunktes, da ein Teil des Bestandes noch nicht reif bzw. bereits überreif ist.

#### Material und Methoden

Die Keimprüfung wurde nach den Internationalen Vorschriften für die Saatgutprüfung (ISTA International Rules for Seed Testing 2015) durchgeführt. In diesem Versuch mit Gemüseerbsen in Quarzsand bei  $20^{\circ}\text{C}$ .

Triebkraftprüfungen sollen den Feldaufgang der Samen unter ungünstigen Bedingungen abschätzen. Neben den klassischen Keimverfahren sind in den ISTA Rules für wenige Fruchtarten auch andere Prüfmethode zur Feststellung der Triebkraft aufgeführt. Eine Methode davon ist der Leitfähigkeitstest (ISTA 2015). Beim Leitfähigkeitstest wird das Quellwasser, in welches die Samen getaucht werden, auf seine elektrische Leitfähigkeit gemessen. Der dabei festgestellte Messwert liefert eine Schätzung für die Triebkraft. Eine hohe Leitfähigkeit des Quellwassers bedeutet eine geringe Triebkraft und umgekehrt. Der Messwert wird in  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  ausgedrückt und folgendermaßen auf die Gemüseerbsenpartien übertragen (Tabelle 1).

**Tabelle 1:** Leitfähigkeitsmesswerte und deren Übertragung auf die Gemüseerbsen-Saatgutpartien

**Table 1:** Conductivity values and their reference to green pea seed lots

Messwert ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	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 Frühsaat noch für ungünstige Bedingungen geeignet
>43	Saatgut ist für die Aussaat ungeeignet

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 absolut

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 Probe bestimmt werden. Falls der Wassergehalt nicht im Bereich zwischen 10 und 14 % liegt, muss eine Nachtrocknung bzw. Nachbefeuchtung erfolgen. Zudem ist es die Praxis gewohnt, dass die Triebkraftergebnisse in Prozent berichtet werden.

Als zweite Triebkraftmethode wurde die Kalttestprüfung für Mais in abgewandelter Form verwendet (ISTA Handbook of Vigor Test Methods 1995). Anstelle in Erdrollen wurden die Körner in großen Schalen 2 Wochen bei konstant 10°C zum Keimen gebracht. In Tabelle 2 wird diese Methode als „Triebkraft - FS“ bezeichnet (VOIT *et al.* 2010).

### Ergebnisse und Diskussion

Die Keimfähigkeiten (KF) der verwendeten Gemüseerbsen-Saatgutpartien lagen zwischen 76 und 99 % (Tabelle 2). Die Saatgutqualität war also recht unterschiedlich. Erwartungsgemäß kam dies auch in den Triebkraftwerten zum Ausdruck. Die Partie Nr. 2 mit nur 76% KF hatte einen Leitfähigkeitswert von 30,3  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  und ist damit weder für die Frühsaat noch für ungünstige Bedingungen geeignet (Tabelle 1). Auch im „Triebkraftverfahren-FS“ erreichte die Partie nur 76%. Für einen problemlosen Feldaufgang sollte der Triebkraftwert bei 80% und darüber liegen.

Die qualitativ beste Partie hatte eine KF von 99% und einen Leitfähigkeitswert von 9,4  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ . Der Triebkraftwert nach dem Freisinger Verfahren war mit 96% ebenfalls sehr hoch. Zwei Saatgutpartien fallen auf, da sie recht unterschiedliche Ergebnisse bei den Triebkraftverfahren zeigen. Es handelt sich um die Saatgutpartien Nr. 7 und 10, die eine KF von 82 bzw. 84% haben. Für diese beiden Partien liefert der Leitfähigkeitstest mit 16,5 bzw. 10,9  $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$  sehr gute Werte, d. h. das Saatgut ist für die frühe Aussaat und für ungünstige Bedingungen geeignet. Völlig andere Triebkraftwerte liefert das Freisinger Verfahren mit nur 68 bzw. 48% Triebkraft. Das sind die niedrigsten Werte von allen untersuchten Partien. In diesen beiden Fällen überschätzt der Leitfähigkeitstest die Triebkraft erheblich. Es ist unwahrscheinlich, dass Partien mit nur mittlerer KF eine hervorragende Triebkraft haben.

### Literatur

ISTA (2015) International Rules for Seed Testing (Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut). International Seed Testing Association (ISTA), Zürich.

ISTA (1995) Handbook of Vigor Test Methods. International Seed Testing Association (ISTA), Zürich.

VOIT B, SCHNELLHAMMER R, EDER J, KILLERMANN B (2010) Einfluss von Keimfähigkeit und Triebkraft auf den Feldaufgang von Mais. Kongressband 2010, *Landschaftselement oder Rohstofflieferant – zur Multifunktionalität des Grünlandes*, 21-24 Sep, Kiel. VDLUFA-Schriftenreihe 66: 560-565.

**Tabelle 2:** Keimfähigkeits- und Triebkraftwerte bei Gemüseerbsen-Saatgutpartien

**Table 2:** Germination and vigour test results of green pea seed lots

Nr.	Keimfähigkeit (%)			Leitfähigkeit ( $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ )	Triebkraft - FS (%)
	normale Keimlinge	anomale Keimlinge	tote Samen		
1	91	5	4	31,0	79
2	76	15	9	30,3	76
3	89	7	4	27,5	93
4	98	2	0	23,2	83
5	99	1	0	20,7	94
6	91	5	4	17,4	95
7	82	10	8	16,5	68
8	97	3	0	13,8	97
9	95	4	1	11,0	97
10	84	10	6	10,9	48
11	99	1	0	9,4	96

## Ursachen und Auswirkungen von Verfärbungen der Samenschale bei Sojabohnen

### *Causes and effects of discoloration of soybean seed coats*

Bettina SCHAUDY\*, Martin PACHNER\*, Johann VOLLMANN\*

\* Universität für Bodenkultur Wien, Department für Nutzpflanzenwissenschaften, Konrad Lorenz-Str. 24, 3430 Tulln, Österreich

(✉) johann.vollmann@boku.ac.at

**Abstract** Cool temperatures during the early development of soybean seeds can induce anthocyanin formation in the seed coat, which causes a visible discoloration of the seed coat at maturity. This is considered as a quality impairment which may prevent seed certification. Therefore, the time span during which soybeans are sensitive to chilling temperatures has been determined. In addition, effects of seed coat discoloration on seed quality characteristics have been determined. The present results reveal that cool temperatures during early seed developmental stages in July promote seed coat discoloration at maturity. With respect to seed quality, discolored soybeans with brown seed coat color are not different in seed oil, protein or sucrose content to their yellow-seeded controls. However, discolored seeds revealed a higher seed viability rate (germination test) as compared to non-discolored seed of the same seed lot. Thus, the results demonstrate that low-temperature-induced seed coat discoloration does not have a negative effect on seed quality.

**Keywords** Anthocyanin · chilling temperature · *Glycine max* · viability

#### Einleitung

Vom Hilum ausgehende braune Verfärbungen auf den Samenschalen der Sojabohne (*Glycine max* [L.] Merr.) werden häufig beobachtet und gelten besonders bei Speisesojabohnen und im Saatgutbereich als qualitätsmindernd. Sie können einerseits durch Infektionen mit dem Sojamosaikvirus oder dem Gurkenmosaikvirus (KASAI *et al.* 2009), andererseits aber auch durch kühle Temperaturen während der Blütezeit und in frühen Stadien der Samenentwicklung (TAKAHASHI 1997, TAKAHASHI & ABE 1999) hervorgerufen werden. Die Verfärbungen gehen zumeist strahlenförmig vom Hilum aus (SENDA *et al.* 2011) und können schwarz sein oder in unterschiedlichen Brauntönen auftreten. Es wurde zudem beobachtet, dass die Fleckung auch abhängig von der Sorte unterschiedlich stark ausgeprägt sein kann (KASAI *et al.* 2009). GRGIC (2015) stellte an frühreifenden Sojabohnen ebenfalls genetische Unterschiede in der Neigung zur Samenschalenverfärbung fest. Darüber hinaus fand er einen Zusammenhang zwischen einer vorhandenen Fleckung der Samenschale und einer erhöhten Keimfähigkeit in Rückstellmustern von Saatgutuntersuchungsproben.

Da Auswirkungen der Verfärbung der Samenschale auf die Qualität von Sojabohnen von großem Interesse sind, wurde in der vorliegenden Arbeit versucht, den Zeitraum, in dem kühle Temperaturen starken Einfluss auf die Fleckenbildung der Samenschalen haben, näher einzugrenzen. Zudem wurden aus unterschiedlich alten Samenmustern Daten für eine Keimfähigkeitskurve generiert, um die Auswirkungen von Verfärbungen auf die Samenviabilität der Sojabohne zu studieren.

#### Material und Methoden

##### *Temperatur-Untersuchung*

Untersucht wurde ein Sortiment von 50 Genotypen, von dem Ernteproben vom Standort Groß-Enzersdorf (Niederösterreich) aus den Anbaujahren 2005 bis 2014 vorhanden waren. Die Fleckung der Samenschale wurde dabei auf einer neunstufigen Skala bonitiert, wobei „1“ für nicht gefleckt und „9“ für stark gefleckt steht. Die Boniturdaten der Proben wurden mit täglichen Temperaturaufzeichnungen (Tagesmittelwerte) des Standortes in Verbindung gebracht. Die statistische Analyse basierte auf gleitenden Temperaturmittelwerten (über 5, 10 oder 15 Tage) über die Vegetationsperiode der Sojabohne und dem Verlauf der Korrelation (Korrelationskoeffizient  $r$ ) dieser Temperaturmittelwerte mit den Flecken-Boniturwerten über die Anbaujahre.

##### *Samen-Viabilität*

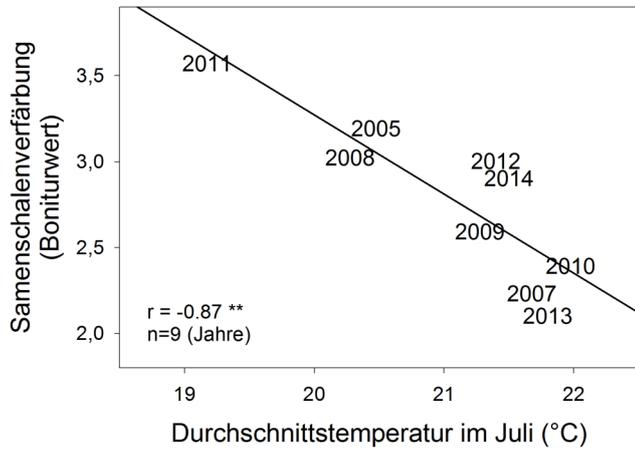
Sojabohnen-Erntemuster aus den Jahren 2003 bis 2014 wurden visuell mit dem oben genannten neunstufigen Boniturschema beurteilt, aus einzelnen Proben wurden jeweils 50 gefleckte und ungeflechte Samen entnommen. Jede Samengruppe wurde erneut auf Basis des Schemas bonitiert und bei 12°C bzw. 23°C in Plastikboxen auf saugfähigem Küchenpapier unter Wasserzugabe angekeimt. Zusätzlich wurden die Samen mit einer 1%igen Chinosol-Lösung besprüht, um das Schimmelwachstum zu hemmen. Samen, die eine intakte Wurzel und Kotyledonen bilden konnten, wurden als lebensfähig gewertet. Die auf diese Weise erhaltenen Samen-Viabilitätswerte wurden mittels paarweiser  $t$ -Tests zwischen Proben mit gefleckten bzw. nicht gefleckten Samenschalen auf statistische Signifikanz überprüft.

#### Ergebnisse und Diskussion

##### *Temperatur*

Die erste Korrelationsanalyse basierend auf Mittelwerten der Verfärbungsbonturen von 100 Einzelproben über 9 Jahre und der jeweiligen Monatsmitteltemperatur ergab, dass die Samenschalenverfärbung eng mit der Durchschnittstemperatur im Juli korreliert ( $r = -0.87$ ,  $P < 0.001$ ) ist. Je kühler die Juli-Durchschnitts-

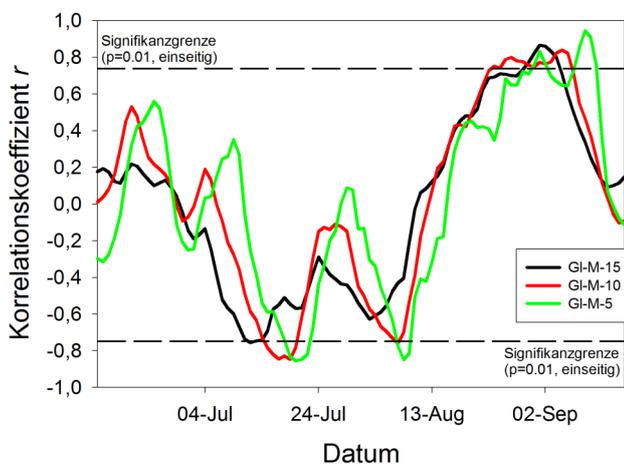
temperatur ist, desto stärker sind die Samenschalen verfärbt, was durch die hohen Boniturwerte ausgedrückt wird, die etwa in den im Monat Juli kühleren Jahren 2005, 2008 oder 2011 festgestellt wurden (Abbildung 1). Die durchschnittliche Temperatur in den Monaten Juni oder August hatte im Vergleich zur Julitemperatur hingegen keinen relevanten Einfluß auf die Verfärbung der Samenschale. Dies bestätigt klar die von TAKAHASHI & ABE (1999) berichteten Zusammenhänge zwischen Temperatur zur Blütezeit und Verfärbung der Samenschale.



**Abbildung 1:** Korrelation zwischen Monatsdurchschnittstemperatur des Monats Juli und Samenschalenverfärbungen über 9 Jahre

**Figure 1:** Correlation between monthly average temperature of the month July and seed coat discoloration score across nine years

Eine weitere Analyse dieser Daten über neun Jahre mit gleitenden Temperaturmittelwerten (über 5, 10 oder 15 Tage gemittelt) und deren Korrelation zu den Samenschalenverfärbungen lässt erkennen, dass kühle Tage vorwiegend um Mitte Juli sowie Anfang August mit dem Auftreten von Fleckungen in signifikantem Zusammenhang stehen (Abbildung 2). Dies entspricht bei frühreifenden Sojabohnen etwa dem Stadium des Blüh-Endes bzw. den ersten Stadien der Hülsenbildung und Samenentwicklung. Andererseits führen auch höhere Temperaturen zu späteren Entwicklungsstadien (Anfang September) ebenfalls zu hohen Boniturwerten der Samenschalen-Verfärbung (positive Korrelation in Abbildung 2).

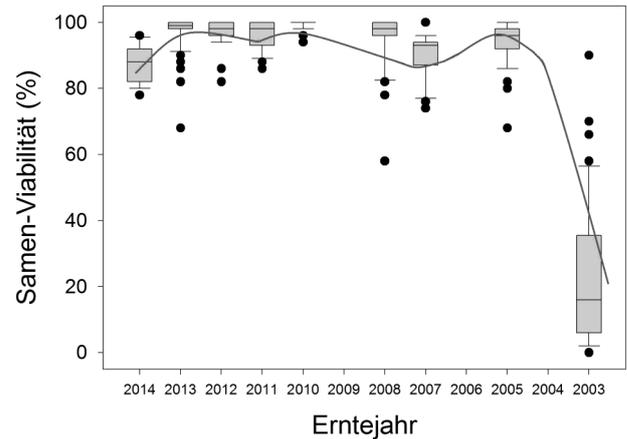


**Abbildung 2:** Verlauf der Korrelationskoeffizienten zwischen gleitenden Temperaturmittelwerten und Samenschalenverfärbungen über 9 Anbaujahre

**Figure 2:** Course of coefficients of correlation between daily moving mean temperatures (5, 10 or 15 day averages) and seed coat discoloration scores across the soybean seed development period across 9 years

### Samen-Viabilität

Der Verlauf der Samen-Viabilität von Sojabohnen unterschiedlichen Alters ist in Abbildung 3 für die untersuchten Samen-Proben bei einer Keimtemperatur von 23°C wiedergegeben. Es zeigt sich zunächst eine stabil hohe Viabilität, die nach einem Samen-Alter von etwa zehn Jahren (Erntejahre früher als 2005) sehr deutlich abnimmt. Der Vergleich der hier generierten Viabilitätskurve mit den von NAGEL & BÖRNER (2010) publizierten Verlaufskurven der Samen-Keimfähigkeit in Abhängigkeit vom Alter der Probe bei unterschiedlichen Arten ergab eine deutliche Ähnlichkeit mit jenen von Futterwicken (*Vicia sativa* L.).



**Abbildung 3:** Verlauf der Samen-Viabilität der Sojabohne bei einer Keimtemperatur von 23°C in Abhängigkeit vom Erntejahr (Alterseffekt)

**Figure 3:** Course of soybean seed viability at a germination temperature of 23°C depending on harvest year (aging effect)

Gefleckte Samen wiesen bei beiden getesteten Keimtemperaturen eine signifikant höhere Viabilität als nicht gefleckte Samen auf (Tabelle 1). Dies könnte ein Hinweis darauf sein, dass die eingelagerten Anthocyane durch das durch sie erhöhte antioxidative Potential (MALENCIC *et al.* 2012) in gefleckten Samen dazu beitragen, die Lebensfähigkeit dieser Samen besser zu erhalten. Vergleichbare Ergebnisse einer signifikant unterschiedlichen Keimfähigkeit aufgrund von Keimversuchen bzw. mittels Tetrazolium-Tests wurden auch von DOS SANTOS *et al.* (2007) an gefleckten bzw. nicht gefleckten Proben von drei brasilianischen Sojabohnen-Sorten berichtet.

**Tabelle 1:** Samen-Viabilität (%) in Abhängigkeit von der Samenschalen-Verfärbung bei zwei unterschiedlichen Keimtemperaturen und paarweise t-Tests

**Table 1:** Seed viability (%) depending on seed coat color at two different germination temperatures with pairwise t-tests

Samenschale	Temp. 23°C	Temp. 12°C
hell	86.5	87.8
gefleckt	88.9	89.4
t	2.6	1.7
FG	71	75
Signifikanz-Niveau	0.011	0.090

Auch wenn in der vorliegenden Untersuchung keine Analysen auf Virusbefall der Sojabohne als einer möglichen weiteren Ursache für Samenschalenverfärbungen durchgeführt wurden, so bestätigten die Ergebnisse klar den Temperatureinfluss während früher Stadien der Samenentwicklung (Abbildung 2) auf die Bildung von

Samenflecken. Aus der Sicht der Saatgutqualität sind die in Tabelle 1 gezeigten Samenviabilitäten von gefleckten Sojabohnen im Vergleich zu solchen mit heller Samenschalenfarbe von besonderem Interesse: Die Saatgutqualität wird durch die Samenschalenverfärbung nicht negativ beeinflusst, sondern sogar um einige Prozentpunkte verbessert, was durch die antioxidative Wirkung der eingelagerten Anthocyanfarbstoffe bedingt sein dürfte.

#### Literatur

DOS SANTOS EL, NIVALDO POLA J, DO REGO BARROS AS, CAVENAGHI PRETE CE (2007) Qualidade fisiológica e composição química das sementes de soja com variação na cor do tegumento (Soybean seed coat variation and its influence on the physiological quality and chemical composition). *Rev Bras Sementes* 29: 20-26. (in Portuguese, English abstract). DOI: 10.1590/S0101-31222007000100003

GRGIC I (2015) Ursachen der Samenschalenverfärbungen bei Sojabohnen. Masterarbeit, Universität für Bodenkultur, Wien. [<http://permalink.obvsg.at/bok/AC12171972>; accessed 10 Mar 2016]

KASAI A, OHNISHI S, YAMAZAKI H, FUNATSUKI H, KURAUCHI T, MATSUMOTO T, YUMOTO S, SENDA M (2009) Molecular mechanism of seed coat discoloration induced by low temperature in yellow soybean. *Plant Cell Physiol* 50: 1090-1098. DOI: 10.1093/pcp/pcp061

MALENCIC D, CVEJIC J, MILADINOVIC J (2012) Polyphenol content and antioxidant properties of colored soybean seeds from Central Europe. *J Med Food* 15: 89-95. DOI: 10.1089/jmf.2010.0329

NAGEL M, BÖRNER A (2010) The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Sci Res* 20: 1-12. DOI: 10.1017/S0960258509990213

SENDA M, KURAUCHI T, KASAI A, OHNISHI S (2012) Suppressive mechanism of seed coat pigmentation in yellow soybean. *Breed Sci* 61: 523-530. DOI: 10.1270/jsbbs.61.523

TAKAHASHI R (1997) Association of soybean genes I and T with low-temperature induced deterioration. *Crop Sci* 37: 1755-1759. DOI: 10.2135/cropsci1997.0011183X003700060014x

TAKAHASHI R, ABE J (1999) Soybean maturity genes associated with seed coat pigmentation and cracking in response to low temperatures. *Crop Sci* 39: 1657-1662. DOI: 10.2135/cropsci1999.3961657x



## Optomachines: Phänotypisierungsgeräte, immer schneller, immer umfassender

### *Optomachines: Devices for high-throughput seed phenotyping*

Francois PARADIS\*

\* Optomachines, 8 rue Wagner, 63200 Riom Frankreich

(✉) fparadis@optomachines.fr

**Abstract** Optomachines produces measuring and monitoring machines based on image analysis for seed counting, seed measurements, sorting and high-throughput phenotyping. The devices allow plant breeders and seed researchers to work in a reliable and fast way, and to allocate the saved time for research work.

**Keywords** Biometry · image analysis · seed counting · sorting · thousand seed weight

#### Einleitung

Die Firma Optomachines, in Frankreich im Jahr 1999 gegründet, entwickelt und stellt Messgeräte mit Bildverarbeitung her, mit dem Ziel die Arbeit der Pflanzenzüchter und der Saatgutforscher zu erleichtern, wenn zeitaufwändige Kornzählungen oder andere Messungen und Analysen am Saatgut durchgeführt werden müssen.

#### *Tausendkorngewicht und Zählen: Opto Agri*

Die Körner werden in einen transparenten Behälter geschüttet und in die Maschine eingebracht. Der Behälter wird von unten beleuchtet. Eine Kamera zur Aufnahme ist oben angebracht. Die Einzelkörner werden durch die Bildverarbeitung automatisch getrennt und separat verarbeitet.

Die benötigte Zeit zur Bestimmung des Tausendkorngewichtes (TKG) bzw. zum Zählen von ca. 600 Hartweizenkörner oder ca. 3000 Rapskörner beträgt fünf Sekunden. *Opto Agri* ist ein multifunktionales Gerät, welches - mittels einer Kamera mit höherer Auflösung und einem spezifischen Behälter - auch für sehr kleine Körner (<2 mm) wie Gemüsesamen geeignet ist.

Bei der routinemäßigen Verwendung muss keine Einstellung geändert werden, keine Reinigung des Gerätes vorgenommen werden und auch das Untersuchungsmaterial muss nicht verändert werden. Mit *Opto Agri* kann weiters die Samenbiometrie und die Blattfläche gemessen werden.

Ab 2016 wird eine Variante des *Opto Agri* mit einem automatischen Beladungsgerät, speziell für Produktionsanlagen, erhältlich sein. Dieses Gerät wird voll automatisch das TKG alle 30 Sekunden bestimmen und bei der Beutelbefüllung kann die Sicherheitsmenge reduziert werden.

#### *Optischer Korn-Klassentrenner*

Optomachines hat 2015 ein Laborgerät entwickelt, der kleine Körnermengen in vier (plus eine zusätzliche) Klassen nach Morphometrie, Farbe und einer Kombination von Faktoren sortiert. Die Software enthält 40 Formparameter. Der Benutzer kann Klassen aus den Trainingsdaten definieren, um z.B. Ganz- und Bruchkorn oder gesunde, gefleckte und beschädigte Körner zu sortieren. Alle Bilder und alle Biometrie Ergebnisse sind automatisch gespeichert. Verschiedene Wellenlängen können nach Bedarf verwendet werden.

#### *Phänotypisierung Robot Anlage*

Diese Anlage wird derzeit für INRA Montpellier produziert. Es ist ein echtes automatisiertes Analyselabor für Saatgutmuster bis vier Kilogramm. Die Anlage enthält einen Körner Reiniger, eine Waage, einen Mischer für eine Homogenisierung der Körner, ein NIRS-Gerät (Proteine, spezifisches Gewicht, Feuchtigkeit), ein *Opto Agri* mit Beladungsgerät (für Morphometrie Messungen und TKG) und ein Beutelsystem. Die Anlage läuft automatisch mit einem Roboter, und ermöglicht die Analyse von 50 Muster in 2,5 Stunden. Die Anlage wird ab Mai 2016 in Frankreich zu besichtigen sein.

#### Zusammenfassung

Die Saatgutanalyse mit digitalen Bildverarbeitungs- und Messgeräten stellt eine logische Weiterentwicklung der bisherigen Methoden dar. Pflanzenzüchter und die Saatgutforscher schätzen Schnelligkeit, Genauigkeit und Ergonomie dieser zeitsparenden Messgeräte. Weitere Informationen sind über die Website [www.optomachines.fr](http://www.optomachines.fr) abrufbar.

