

Saatgut 
Österreich

Vereinigung der Pflanzzüchter
und Saatgutkaufleute Österreichs



T a g u n g s b a n d



65. Tagung

24. - 26. November 2014

**Zukünftiges Saatgut - Produktion,
Vermarktung, Nutzung und Konservierung**

**Future Seed - production,
marketing, use and conservation**

Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt
für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

Vereinigung der Pflanzenzüchter
und Saatgutkaufleute Österreichs

65. Tagung

24. - 26. November 2014

Zukünftiges Saatgut - Produktion,
Vermarktung, Nutzung und Konservierung

Future Seed - production,
marketing, use and conservation

Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt
für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

Impressum

Tagungsband der 65. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 25.-26. November 2014, Raumberg-Gumpenstein

Herausgeber

Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs
Wiener Straße 64, A-3100 St. Pölten
Tel.: +43 50 259 22500 Fax: +43 50 259 95 22500
email: office@saatgut-oesterreich.at; www.saatgut-oesterreich.at

unter Mitwirkung von

Gesellschaft für Pflanzenzüchtung e.V., Quedlinburg
Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften e.V., Kiel

Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

Direktion

Dir. Mag. Dr. Anton Hausleitner
Prof. DI Othmar Breitenbaumer
Dipl. ECBHM Dr. Johann Gasteiner

Für den Inhalt verantwortlich

die Autoren

Redaktion

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

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

Univ.Doiz. Dr. Karl Buchgraber
Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

Layout

Sandra Pleininger
Institut für Pflanzenbau und Kulturlandschaft
Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

Druck, Verlag und © 2015

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

ISBN-13: 978-3-902849-22-9

ISSN: 2072-9596

Vorwort

Michael Gohn^{1*}

Sehr geehrte Damen und Herren, geschätzte Kollegen!

Als Obmann der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs darf ich Sie sehr herzlich zur heurigen 65. Tagung hier in Raumberg-Gumpenstein begrüßen.

Es ist eine jahrzehntelange Tradition, uns zu Winterbeginn hier einzufinden, nur findet in den letzten Jahren immer weniger Winter statt. Wir haben heuer wieder eine Gemeinschaftstagung mit der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung und der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, wodurch wir auch einen erweiterten Teilnehmerkreis willkommen heißen dürfen. Wir freuen uns darüber.

An dieser Stelle möchte ich mich auch bei Herrn Direktor Dr. Hausleitner für die Zurverfügungstellung der Räumlichkeiten der Schule sehr herzlich bedanken.

Wir haben als Schwerpunkt der heurigen Tagung „Zukünftiges Saatgut“ gewählt, in breiter Abdeckung der Bereiche. Derzeit befindet sich Saatgut sogar in der öffentlichen Wahrnehmung, mit der Neuerstellung der EU-Saatgutverordnung durch die Kommission. Auch sind Saatgutzüchter mit dem Inkrafttreten des Nagoya Protokolls gefordert und werden in ihren Möglichkeiten mehr gebunden. Alternativ zum Nagoya Protokoll wird von der Europäischen Saatgutvereinigung ESA der Internationale Vertrag über Pflanzengenetische Ressourcen der FAO forciert, wegen der vereinfachten Abwicklung. Persönlich bin ich auf die kommenden Vorträge sehr gespannt und wünsche dieser unserer Tagung einen erfolgreichen Verlauf.

¹ Obmann der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Wiener Straße 64, 3100 ST. PÖLTEN, Österreich

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



Vorwort

Andreas Börner^{1*}

Sehr geehrte Damen und Herren, liebe Kollegen und Freunde!

Ich darf Sie als Leiter der Arbeitsgruppe Saatgut und Sortenwesen der Gesellschaften für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Deutschland, aber auch im Namen der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs sehr herzlich begrüßen. Die diesjährige Veranstaltung ist eine Gemeinschaftstagung der genannten Organisationen. Schwerpunkt der Tagung ist die Thematik:

„Zukünftiges Saatgut - Produktion, Vermarktung, Nutzung und Konservierung“.

Die Qualität von Saatgut ist ein wesentlicher Faktor für die künftige Ernährungssicherheit. Um diese zu gewährleisten, ist nach Schätzungen der FAO die globale Nahrungsmittelproduktion bis 2050 um 70% zu erhöhen. Der prognostizierte Klimawandel, der eine Zunahme von extremen Wetterereignissen bewirkt, macht es umso schwieriger, dieses Ziel zu erreichen. Die Tagung wird sich der Erzeugung und Vermarktung von hochwertigem Saatgut widmen. Die Qualität von Saatgut wird durch die Umwelt, aber auch durch genetische Prozesse in der Mutterpflanze und im Samen bestimmt. Die Saatgutbeschaffenheit spielt aber auch eine wichtige Rolle für die Erhaltung der genetischen Diversität in Samenbanken. Die Langlebigkeit dieser Saatgutmuster ist von immenser Bedeutung für Genbanken global, in denen ca. sieben Millionen Proben lagern.

Ich freue mich, Saatgutproduzenten, Saatgutforscher, Experten zur Erhaltung pflanzengenetischer Ressourcen, sowie Phytopathologen und Pflanzenzüchter, die sich mit Aspekten der Saatgutqualität (z.B. samenbürtigen Krankheiten, Quarantäneschädlingen, Auswuchs, Hybrid- u.a. Zuchtssystemen etc.) beschäftigen, hier in Raumberg-Gumpenstein begrüßen zu dürfen. Dafür meinen Dank an Herrn Direktor Dr. Anton Hausleitner der uns als Gäste hier aufgenommen hat. Damit ist auch in diesem Jahr ein reibungsloser Ablauf garantiert. Herrn Prof. Heinrich Grausgruber sage ich Dank für die Zusammenstellung des wissenschaftlichen Programms. Dem Geschäftsführer der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Herrn Dr. Anton Brandstetter danke ich für die Möglichkeit, diese mit den beiden deutschen Gesellschaften gemeinsame Tagungsdurchführung zu ermöglichen. Nicht zuletzt gilt der Dank Frau Manuela Geppner für die umfangreiche technisch-organisatorische Vorbereitung dieser Vortragstagung.

Ich wünsche uns allen eine erfolgreiche Veranstaltung, interessante Diskussionen und Gespräche mit Fachkollegen und Freunden, sowie rundum einen angenehmen Aufenthalt.

Die 65. „Gumpensteiner Tagung“ ist eröffnet.

¹ Leiter der Arbeitsgruppe Saatgut und Sortenwesen der Gesellschaften für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK), Corrensstr. 3, OT Gatersleben, 06466 STADT SEELAND, Deutschland

* Ansprechpartner: Priv.-Doz. Dr. Andreas BÖRNER, boerner@ipk-gatersleben.de



Inhaltsverzeichnis

Table of contents

Seed banking - State of the art	1
Andreas Börner, Manuela Nagel, Mian Abdur Rehman Arif, Mai Allam, Monika Agacka-Mořdoch, Ulrike Lohwasser	
Ex situ conservation of barley germplasm - Genetic and biochemical markers reveal mechanism of seed deterioration	3
Manuela Nagel, Ilse Kranner, Steven P.C. Groot, Jan Kodde, Andreas Börner	
Chickpea seed maintenance in Germany - germination of <i>kabuli</i> and <i>desi</i> chickpea after cold and ambient storage	5
Manuela Nagel, Kevin Kozinna, Andreas Börner	
Nagoya-Protokoll und EU-Verordnung - Auswirkungen für den Materialtransfer von Zuchtmaterial Nagoya-Protocol and EU-Regulation - effect on the material transfer of germplasm for plant breeding	9
Paul Freudenthaler	
Qualitätsstandards für neue Technologien in der Besatzbestimmung Quality standards for supporting advanced technologies in ‘Other Seed Determination’	11
Peter Deplewski, Michael Kruse	
Ist für die Berechnung der Aussaatmenge die Triebkraft praxisgerechter als die Keimfähigkeit? Calculation of the sowing rate: does the vigour value give more information for sowing than the germination value?	17
Benno Voit, Berta Killermann	
Seed germination of <i>Silphium perfoliatum</i> L. and <i>Sida hermaphrodita</i> L., and technological measures for its improvement	21
Markus Gansberger, Manfred Weinhappel, Philipp von Gehren, Andreas Ratzenböck, Peter Liebhard, Josef Mayr	
Establishment of <i>Silphium perfoliatum</i> L. by sowing	23
Philipp von Gehren, Markus Gansberger, Manfred Weinhappel, Peter Liebhard, Andreas Ratzenböck, Josef Mayr	
Isolation and characterization of endophytes isolated from seeds of different plants and the application to increase juvenile development	25
Friederike Trognitz, Katja Piller, Manuela Nagel, Andreas Börner, Carl-Florian Bacher, Marie Rechlik, Hanna Mayrhofer, Angela Sessitsch	
Optomachines: Saatgutanalyse mit Bildverarbeitungsmessgeräten High-throughput phenotyping of seed characteristics through image analysis	29
François Paradis	
Integrated seed testing by high resolution melting	31
Eduard Mader	
Schweizerische Saatgutproduktion im Überblick - Professionalisierung in der Produktionskette A survey of the seed production in Switzerland - Professionalizing the production chain	33
Thomas Hebeisen, Manuela Schläpfer	
Predbreed - Knowledge-based breeding of bio-energy cereals	37
Dominik Losert, Tobias Würschum, Arno Ruckelshausen, Hans Peter Maurer	
Erfassung von Schnittterminen im Wirtschaftsgrünland auf Grundlage von Oberflächenänderungen im Radarbildvergleich Using radar backscatter changes for the detection of cutting dates in grasslands	39
Kerstin Grant, Melanie Wagner, Robert Siegmund, Stephan Hartmann	

CORNET NoSprout - Methods for selecting falling number stability in winter wheat	43
Theresa Albrecht, Volker Mohler, Ulrike Nickl, Günter Henkelmann, Lorenz Hartl	
Association mapping versus QTL analysis - Using plant genetic resources for discovery loci determining pre-harvest sprouting and dormancy in wheat and barley	45
Ulrike Lohwasser, Mian Abdur Rehman Arif, Andreas Börner	
Inventory and effects of causal genes for thousand grain weight in winter wheat	47
Volker Mohler, Theresa Albrecht, Lorenz Hartl	
Kornertrag und Rohproteingehalt verschiedener Triticale-Sorten auf unterschiedlichen Standorten im humiden Klimagebiet 2010-2014 in biologischer Wirtschaftsweise	
Grain yield and crude protein content of triticale varieties from organically cultivated sites in the humid climatic region in the years 2010-2014	49
Waltraud Hein, Hermann Waschl	
Genetische Variation des Merkmals Trockentoleranz in Deutschem Weidelgras (<i>Lolium perenne</i> L.) - Evaluierung phänotypischer Selektionsmerkmale	
Genetic variation of drought tolerance in perennial ryegrass (<i>Lolium perenne</i> L.) - evaluation of phenotypic selection traits	51
Peter Westermeyer, Evelin Willner, Andrea Wosnitza, Ulf Feuerstein, Wilbert Luesink, Sabine Schulze, Annegret Schum, Stephan Hartmann	
Long-term yield trends in German official variety trials to assess the value for cultivation and use (VCU) and in national on-farm yields	57
Friedrich Laidig, Hans-Peter Piepho, Thomas Drobek, Uwe Meyer	
Optimum breeding strategies for hybrid wheat	59
C. Friedrich H. Longin, Jochen C. Reif, T. Würschum	
Entwicklung männlich-steriler Triticale-Linien mit Hilfe von <i>Aegilops kotschy</i>-Cytoplasma und der Weizen-Roggen-Translokation 1BL.1RS	
Development of male-sterile triticale lines using <i>Aegilops kotschy</i>-cytoplasm and the wheat-rye translocation 1BL.1RS	61
Friedrich J. Zeller, Alfred Baumann, Martin Müller	
Durum wheat breeding - Frost tolerance and quality	65
Alisa-Naomi Sieber, Carl Friedrich Horst Longin, Tobias Würschum	
Maislandsorten in Bayern: Historie, Leistungsvermögen und Züchtungsforschung	
Bavarian maize landraces: history, agronomic traits and breeding activities	67
Barbara Eder, Bianca Büttner, Günther Schweizer, Joachim Eder	
Neue Techniken für die Pflanzenzüchtung und die Folgen ihrer Anwendung in der Praxis	
New techniques for plant breeding and the consequences of their application in practice	71
Alexandra Ribarits	
Verbesserung des Resistenzniveaus der Weißen Lupine gegen Anthraknose	
Improving resistance of white lupin against anthracnose	77
Irene Jacob, Manuel Deyerler, Ulf Feuerstein, Herbert Geißendörfer, Markus Heinz, Dörte Schwenecker, Peer Urbatzka	
<i>Diaporthe phaseolorum</i> an Sojabohnen aus österreichischen Vermehrungsregionen	
<i>Diaporthe phaseolorum</i> on soybeans from Austrian breeding regions	81
Angela Weingast, Manfred Weinhappel	

Evaluierung von Wintergerste-Sorten und -Zuchtstämmen auf Resistenz gegenüber Streifenkrankheit (<i>Drechslera graminea</i>) - Ergebnisse 2013-14 Evaluation of winter barley varieties and breeding lines for resistance to stripe disease (<i>Drechslera graminea</i>) - results 2013-14	85
Ben Schmehe, Hartmut Spieß	
Evaluation of <i>Fusarium</i> head blight resistance in European winter wheat varieties	89
Lenka Štočková, Jana Chrpová, Václav Šíp	
Befall von Winterweizen, Sommerweizen und Triticale mit Gelbrost (<i>Puccinia striiformis</i>) in Österreich 2014 - Geänderte Sortenreaktion Infestation of winter wheat, spring wheat and triticale with yellow rust (<i>Puccinia striiformis</i>) in Austria 2014 - Change in cultivar reaction	93
Michael Oberforster, Martin Plank	
Maisvirosen: Unbeachtete Begleiter im internationalen Saatguthandel mit unbekanntem Folgen für den österreichischen Maisanbau Maize viruses: overseen risk in international seed trade with unknown consequences for the Austrian maize cultivation	101
Thomas Leichtfried, Johann Schaffer, Richard A. Gottsberger	
COBRA stakeholder meeting on bunt diseases in wheat	103
Almuth Elise Muellner, Heinrich Grausgruber, Hermann Buerstmayr	
Development of <i>Tilletia caries</i> during several generations in seed propagation	105
Manfred Weinhappel, Angela Weingast	
Untersuchungen zur Bodenbürtigkeit von Gewöhnlichem Steinbrand (<i>Tilletia caries</i>) und zur Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen anhand von Feld- und Gefäßversuchen Investigations on the soilborne aspect of bunt (<i>Tilletia caries</i>) and on the viability of spores by field- and pot trials	107
Ivoneta Diethart, Dieter Haas, Birgit Putz, Manfred Weinhappel, Angela Weingast, Wilfried Hartl	
Sortenanfälligkeit von Winterweizen gegenüber Zwergsteinbrand Susceptibility of winter wheat varieties to dwarf bunt of wheat	111
Robert Bauer, Benno Voit, Berta Killermann	
Winter wheat testing for bunt resistance in the Crop Research Institute, Prague	113
Veronika Dumalasová, Pavel Bartoš	
Strategie zur Bekämpfung des Steinbrandes (<i>Tilletia caries</i>) im Bio-Landbau Strategy to control common bunt (<i>Tilletia caries</i>) in organic farming	117
Hartmut Spieß	
Mapping dwarf bunt resistance in winter wheat	123
Almuth Elise Muellner, Herbert Huss, Hermann Buerstmayr	

Seed banking - State of the art

Andreas Börner^{1*}, Manuela Nagel¹, Mian Abdur Rehman Arif^{1,2}, Mai Allam¹,
Monika Agacka-Mołodoch^{1,3}, Ulrike Lohwasser¹

Abstract

The conservation of plant genetic resources for food and agriculture (PGRFA) is a global concern and plays a major role for food security in the future. *Ex situ* genebank collections comprise seed genebanks, field genebanks and collections maintained via *in vitro* or cryo preservation. Most species native to temperate climate zones have 'orthodox' seeds, *i.e.* they can be dried down to low moisture contents without damage to be conserved in specially designed cold stores. Field genebanks and *in vitro* or cryo preservation are used primarily for species which are either vegetatively propagated or which have non-orthodox seeds. Globally there are 1750 *ex situ* genebanks housing about 7.4 million accessions. The largest numbers of accessions stored *ex situ* are of wheat (855 000), rice (775 000), barley (465 000) and maize (325 000). Other large germplasm holdings include bean, sorghum, soybean, oat, groundnut and cotton. In early 2008, the Svalbard Global Seed Vault was established as a safety net for the global *ex situ* seed collections. It is located in the permafrost, 130 m into a mountainside at Svalbard. By the end of 2014 it housed around 840 000 accessions.

With a total inventory of 150 000 accessions from 3212 plant species and 776 genera, the 'Federal *Ex situ* Genebank of Germany' in Gatersleben holds one of the most comprehensive collections worldwide. Seed storage is managed in large cold chambers at -18°C. Seeds are kept in glass jars, covered with bags containing silica gel. The maintenance of the collection requires regeneration. Each year between 8 and 10% of the collection is grown either in the field or in glasshouses. Regeneration is carried out locally to ensure genetic integrity and to minimize genetic erosion. Special attention has to be given to out-pollinating species, which are either multiplied in small glasshouses or in isolation plots in the field. Between 2011 and 2013 about 30 000 samples were distributed annually.

Since the majority of genebank accessions globally is stored in the form of seed, seed longevity is of particular importance for germplasm preservation. At the IPK

research was initiated for a range of crops stored in the genebank since the 1970s. It was clearly indicated that seed deterioration behavior is species specific. However, there are also strong hints for an intraspecific variability. Long term cold stored accessions of most species separated strongly after >20 years. Consequently, studies were initiated determining genetic loci responsible for seed storability. At IPK investigations were performed on barley, wheat, oilseed rape and tobacco employing both bi-parental mapping populations and association mapping panels. It became obvious that loci associated with seed longevity often appear in genomic regions containing genes determining aspects of biotic and abiotic stress responses.

Keywords

Association mapping, *ex situ* conservation, plant genetic resources, seed longevity

References

- BÖRNER A, KHLESTKINA EK, CHEBOTAR S, NAGEL M, REHMAN ARIF MA, NEUMANN K, KOBILJSKI B, LOHWASSER U, RÖDER MS, 2012: Molecular markers in management of *ex situ* PGR - A case study. *J Biosci* 37: 871-877. DOI: 10.1007/s12038-012-9250-2.
- BÖRNER A, LANDJEVA S, NAGEL M, REHMAN ARIF MA, ALLAM M, AGACKA M, DOROSZEWSKA T, LOHWASSER U, 2014: Plant genetic resources for food and agriculture (PGRFA) - maintenance and research. *Genet Plant Physiol* 4: 13-21.
- FAO, 2010: The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Commission on Genetic Resources for Food and Agriculture, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- NAGEL M, A BÖRNER, 2010: The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Sci Res* 20:1-12. DOI: 10.1017/S0960258509990213.
- NAGEL M, REHMAN-ARIF MA, ROSENHAUER M, BÖRNER A, 2010: Longevity of seeds - intraspecific differences in the Gatersleben genebank collections. Tagungsband 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Raumberg-Gumpenstein, Österreich, 24-26 November 2009, pp 179-181. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.

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

² Chinese Academy of Sciences, Institute of Genetics and Development Biology, 286 Huai Zhong Lu, 050021 SHIJIAZHUANG, Hebei, China

³ Institute of Soil Science and Plant Cultivation, State Research Institute, ul. Czartoryskich 8, 24-100 PUŁAWY, Poland

* Corresponding author: Andreas BÖRNER, boerner@ipk-gatersleben.de



Ex situ conservation of barley germplasm - Genetic and biochemical markers reveal mechanism of seed deterioration

Manuela Nagel^{1*}, Ilse Kranner², Steven P.C. Groot³, Jan Kodde³, Andreas Börner¹

Abstract

The *Global Strategy for Plant Conservation of the Convention on Biological Diversity* illustrates that our plant genetic resources have been given a priority status and need to be conserved by in situ and ex situ approaches. Due to lower cost and better control especially seed conservation is mainly used for most of the 7.4 Mio worldwide stored genebank accessions. However, the ability of seeds to survive a certain period of time, termed seed longevity, is strongly dependent on the growth conditions of the mother plant, pre-storage and storage conditions and the genetic background. Strong differences in the shelf life of seeds exist among species. The present study on barley accessions also shows differences appearing between single genotypes. After a storage period of 34 years at 0°C most accessions maintained high germination rates (>90%) but in some cases depletions below 50% was observed. A follow up study investigates five mapping populations using association and QTL mapping and different storage treatments, ranging from dry, long-term stored material to experimental seed ageing using high oxygen pressure and discovered major QTL. The association panel using genebank accessions confirmed the genetic control of seed longevity and linked it to a variety of abiotic and biotic stress reactions occurring during different developmental stages. Reactive oxygen species and antioxidants are assumed to be majorly involved in this reaction. To understand abiotic stress reaction occurring during storage we investigate the relationships between the antioxidants tocopherols, glutathione (γ -glutamyl-cysteinyl-glycine) and long-term stored and artificially aged barley accessions. To assess abiotic

stress the half-cell reduction potential of glutathione was measured. Viability loss concurred with a shift towards more oxidizing intracellular conditions, suggesting that oxidative stress contributes to seed deterioration irrespective of ageing treatment.

Acknowledgments

Sibylle Pistrick, Anita Winger and Stefanie Thumm are gratefully acknowledged for their excellent technical assistance. Financial support from the EU (FP7 grant 311840 EcoSeed) is gratefully acknowledged.

References

- BÖRNER A, KHLESTKINA EK, CHEBOTAR S, NAGEL M, ARIF MA, NEUMANN K, KOBILJSKI B, LOHWASSER U, RÖDER M, 2012: Molecular markers in management of ex situ PGR - A case study. *J Biosci* 37: 871-877.
- GROOT SPC, SURKIAA, DE VOS RCH, KODDE J, 2012: Seed storage at elevated partial pressure of oxygen, a fast method for analysing seed ageing under dry conditions. *Ann Bot* 110: 1149-1159. DOI: 10.1093/aob/mcs198.
- KRANNER I, MINIBAYEVA FV, BECKETT RP, SEAL CE, 2010: What is stress? Concepts, definitions and applications in seed science. *New Phytol* 188: 655-673. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2010.03461.x.
- NAGEL M, KRANNER I, NEUMANN K, ROLLETSCHEK H, SEAL CE, COLVILLE L, FERNÁNDEZ-MARÍN B, BÖRNER A, 2015: Genome-wide association mapping and biochemical markers reveal that seed ageing and longevity are intricately affected by genetic background and developmental and environmental conditions in barley. *Plant Cell Env*, in press. DOI: 10.1111/pce.12474.
- NAGEL M, BÖRNER A, 2010: The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Sci Res* 20, 1-12.

¹ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Genebank Department, Corrensstraße 3, OT Gatersleben, 06466 STADT SEELAND, Germany

² University of Innsbruck, Institute of Botany, Sternwartestraße 15, 6020 INNSBRUCK, Austria

³ Wageningen University and Research Centre, Plant Research International, PO Box 16, 6700 AA WAGENINGEN, The Netherlands

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



Chickpea seed maintenance in Germany - germination of *kabuli* and *desi* chickpea after cold and ambient storage

Manuela Nagel^{1*}, Kevin Kozinna¹, Andreas Börner¹

Abstract

Chickpea (*Cicer arietinum*) is an important grain legume which differs into small, dark coloured *desi* and large, light coloured *kabuli* types. *Desi* types are able to tolerate cooler temperatures whereas *kabuli* are produced in the semi-arid and arid tropics. To maintain chickpea diversity, the IPK Gatersleben, Germany, houses a minor collection of 528 chickpea accessions which are half *kabuli* and *desi* types. Unfortunately, the growing conditions, especially temperatures, are below the optimal range of 20 to 35°C during germination and field emergence. Therefore, initial seed quality is not in an optimum range for long-term storage.

Keywords

Cicer arietinum, genebank, long-term storage, plant genetic resources, viability

Introduction

Chickpea (*Cicer arietinum* L.), an important grain legume (UPADHYAYA et al. 2011) with a total production of 11.2 Mio t, grows under wide ranges of climatic conditions. The most prominent *desi* type, a microsperma type with small, dark coloured seeds of angular shape, accounts for 80% of global production and is able to tolerate cooler temperatures. In contrast, the macrosperma *kabuli* type with large, round, light coloured seeds is produced in the semi-arid and arid tropics (SINGH and DIWAKAR 1995).

To maintain chickpea diversity, plant genetic resources centres are responsible to maintain, reproduce and distribute valuable material for future breeding programmes. For chickpea the biggest collection, accounting for 20267 accessions which are 20% of chickpea genetic resources, is maintained in the ICRISAT genebank (FAO 2010, SHARMA et al. 2013) in India where 66% of world's chickpeas are produced. About 80% of the accessions are categorized as *desi* types whereas 15% belong to *kabuli* types and about 5% to *intermediate* and pea shaped types (PUNDIR et al. 1985).

In Germany, the Gatersleben genebank houses a minor collection of 528 chickpea accessions which are half *kabuli* and

desi types. Seeds are majorly collected from Italy, Iran, India, Tunisia and Greece and are multiplied in the field estates of the IPK. The growing conditions and especially temperatures are below the optimal range of 20 to 35°C during germination and emergence (ELLIS et al. 1989). Therefore, genebank curators are confronted with several problems which result in reduced seed quality and storability of chickpea accessions. The aim of the study is to evaluate the chickpea collection with respect to improvements in reproduction and storage conditions.

Materials and methods

Historic genebank data

Chickpea accessions have been collected, multiplied and maintained by the Federal *ex situ* collection for agricultural and horticultural plants of Germany in Gatersleben over 60 years. Seeds are stored at sub-zero conditions (-18°C) and low seed moisture contents of about 6% (cold storage). Surplus seed production has been kept in ambient storage at 20°C and 50% relative humidity (RH). Over the storage period seeds were tested frequently on germination according to ISTA (2014) procedures and results are given as proportion of normal seedlings or total germinated seeds. Historic germination data were analysed by probit analyses.

New germination tests of chickpea seed types

Chickpea accessions from different harvest years, storage conditions (ambient and cold storage) and of different seed types (*desi*, *kabuli*, *intermediate*) (Table 1) were selected according to their taxonomic group (*Cicer* sp. & *Cicer arietinum* L.) and tested for germination in 2013.

Table 1: Chickpea genebank accessions of *desi*, *kabuli* and *intermediate* seed type were tested for germination

	Ambient storage			Cold storage		
	Amount	Min	Max	Amount	Min	Max
Accessions	123			402		
Harvest years	5	2003	2009	18	1989	2009
Seed age	5	4	10	18	4	24
Seed type	kabuli	desi	intermediate	kabuli	desi	intermediate
Accessions	45	45	29	203	132	59

¹ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK), Genebank Department, Corrensstraße 3, OT Gatersleben, 06466 STADT SEELAND, Germany

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

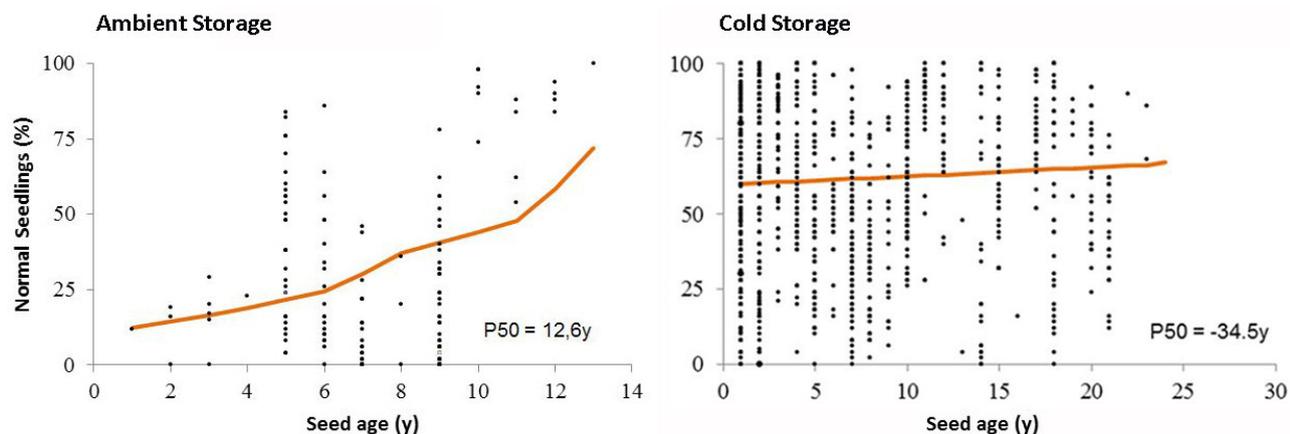


Figure 1: Historic germination data of chickpea accessions stored under ambient and cold storage conditions for up to 22 years. Orange line shows estimated probit curves.

Table 2: Statistics of long-term stored chickpea

	Ambient storage			Cold storage		
	1975	2009	2013	1973	2011	2013
Tested accessions	149			1009		
Harvest years	13	1975	2009	30	1973	2011
Test years	6	1992	2013	12	1993	2013
Seed age	13	0	19	23	1	28
Germination	29.05	0.00	100.00	59.84	0.00	100.00
SD Germination	28.07			26.98		
P50	12.63	10.73	16.46	-34.55	-1011.06	-13.21
Intercept	-1.15	-1.18	-1.12	0.25	0.24	0.26
Slope	0.09	0.08	0.10	0.01	0.01	0.01

Results and discussion

Seed viability after storage is dependent on various factors. Initial seed quality, storage conditions (ELLIS and ROBERTS 1980) and genetic background (NAGEL et al. 2009, 2010, 2015; NAGEL and BÖRNER 2010) are of highest importance.

Although the entire territory of Germany is characterised by warm temperate humid mid-latitude climate, chickpea reproduction conditions are out of an optimum range. For evaluation of seed viability status of the German *ex situ* genebank in Gatersleben historic germination data of accessions from cold storage and ambient storage were analysed (Table 2, Figure 1).

Available germination data show a wide distribution of the appearance of normal seedlings in each seed age under each storage conditions. The ascending germination curves (Figure 1) and the positive slopes of the probit lines (Table 2) indicate increasing seed viability which might be partly explained by the release of seed dormancy. By definition seed dormancy is regarded as the failure of an intact viable seed to complete germination under favourable conditions (BEWLEY 1997). In chickpea dormancy is mostly expressed by hardseededness which prevents an exchange of water and gas. Wide variation exists among chickpea cultivars. In general harder and thicker *desi* seed types are observed to produce more hardseededness seeds than the thinner *kabuli* type seeds (VAN DER MAESEN 1984). However, on basis of the historic germination data discrimination between dormant and low vigour seeds is not possible. Therefore, new germination tests including a

seed scarification treatment were initiated (Figure 2).

Probit analysis conducted after germination tests in 2013 revealed significant differences between storage conditions and seed type. Total number of germinated seeds decreased in ambient storage and showed typical effects of deterioration e.g. soft and moldy seeds. Again, in cold storage, seed viability increased demonstrating longer preservation of seed dormancy at cooler temperatures (FINCH-SAVAGE and LEUBNER-METZGER 2006). In comparison with *kabuli* and *intermediate* types *desi* seed types showed higher initial seed germination in ambient and cold storage. This is further reflected by the higher half-viability (P50) period of 10.3 y in ambient storage ($P50_{kabuli} = 3.1$ y, $P50_{intermediate} = 4.1$ y) and indicates more suitable growing conditions for *desi* than for *kabuli* and *intermediate* types in Gatersleben. However, seed storability and the half-viability period is influenced by seed morphology and characteristics. Therefore, VAN DER MAESEN (1984) assumed a relationship between harder and thicker seed coat of *desi* types and the extended seed storability in comparison with thinner coated *kabuli* types.

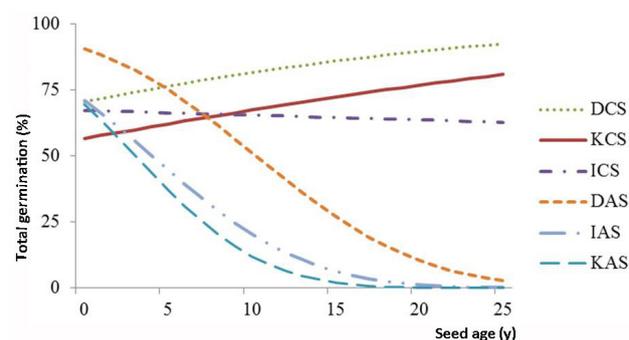


Figure 2: Viability curves of cold (CS) and ambient stored (AS) chickpeas accessions distinguished according to their seed type (K, *kabuli*; D, *desi*; I, *intermediate*). Curves were estimated by probit analysis on basis of total germination tested in 2013.

Acknowledgements

We like to acknowledge Sibylle Pistrick, Anita Winger and Gabi Matzig for their excellent technical assistance; Mathias Kotter, Susanne Schmidt, Birgit Harke and Peter Schreiber for their great engagement in seed reproduction and storage.

References

- BEWLEY JD, 1997: Seed germination and dormancy. *Plant Cell* 9: 1055-1066. DOI: 10.1105/tpc.9.7.1055.
- ELLIS RH, ROBERTS EH, 1980: Improved equations for the prediction of seed longevity. *Ann Bot* 45: 13-30.
- ELLIS RH, HONG TD, ROBERTS EH, 1989: A comparison of the low-moisture-content limit to the logarithmic relation between seed moisture and longevity in twelve species. *Ann Bot* 63: 601-611.
- FAO, 2010: The second report on the state of the world's plant genetic resources for food and agriculture. Food and Agriculture Organization (FAO) of the United Nations, Rome.
- FINCH-SAVAGE WE, LEUBNER-METZGER G, 2006: Seed dormancy and the control of germination. *New Phytol* 171: 501-523. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2006.01787.x.
- ISTA, 2014: International rules for seed testing. International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf, Switzerland.
- NAGEL M, BÖRNER A, 2010: The longevity of crop seeds stored under ambient conditions. *Seed Sci Res* 20: 1-12. DOI: 10.1017/S0960258509990213.
- NAGEL M, VOGEL H, LANDJEVAS, BUCK-SORLING, LOHWASSER U, SCHOLZ U, BÖRNER A, 2009: Seed conservation in *ex-situ* genebanks -genetic studies on longevity in barley. *Euphytica* 170: 1-10. DOI: 10.1007/s10681-009-9975-7.
- NAGEL M, REHMAN ARIF MA, ROSENHAUER M, BÖRNER A, 2010: Longevity of seeds -intraspecific differences in the Gatersleben genebank collections. Tagungsband 60. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2009, pp 179-181. HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Austria.
- NAGEL M, KRANNER I, NEUMANN K, ROLLETSCHEK H, SEAL CE, COLVILLE L, FERNÁNDEZ-MARÍN B, BÖRNER A, 2015: Genome-wide association mapping and biochemical markers reveal that seed ageing and longevity are intricately affected by genetic background and developmental and environmental conditions in barley. *Plant Cell Env*, in press. DOI: doi: 10.1111/pce.12474.
- PUNDIR RPS, RAO NK, VAN DER MAESEN L J G, 1985: Distribution of qualitative traits in the world germplasm of chickpea (*Cicer arietinum* L.). *Euphytica* 34: 697-703. DOI: 10.1007/BF00035406.
- SHARMA S, UPADHYAYA HD, VARSHNEY RK, GOWDA CLL, 2013: Pre-breeding for diversification of primary gene pool and genetic enhancement of grain legumes. *Front Plant Sci* 4: 309. DOI: 10.3389/fpls.2013.00309.
- SINGH F, DIWAKAR B, 1995: Chickpea botany and production practices. Skill Development Series No. 16. ICRISAT, Andhra Pradesh, India. [<http://oar.icrisat.org/2425/1/Chickpea-Botany-Production-Practices.pdf>; accessed 24 Jan 2015].
- UPADHYAYA HD, THUDI M, DRONAVALLIN, GUJARIAN, SINGH S, SHARMA S, VARSHNEY RK, 2011: Genomic tools and germplasm diversity for chickpea improvement. *Plant Genet Resour* 9: 45-58. DOI: 10.1017/S1479262110000468.
- VAN DER MAESEN L J G, 1984: Seed storage, viability and rejuvenation. In: WHITCOMBE JR, ERSKINE W (Eds), Genetic resources and their exploitation - Chickpeas, faba beans and lentils, pp 13-22. Kluwer Academic Publishers, The Hague, The Netherlands.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage von Saatgut Österreich (<http://www.saatgut-austria.at/-Tagungsarchiv-Tagungsband> 2014) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.



Nagoya-Protokoll und EU-Verordnung - Auswirkungen für den Materialtransfer von Zuchtmaterial

Nagoya-Protocol and EU-Regulation - effect on the material transfer of germplasm for plant breeding

Paul Freudenthaler^{1*}

Abstract

The Nagoya Protocol on Access to Genetic Resources entered into force on 12th October 2014. In order to ensure uniform conditions for the implementation of this regulation, the European Parliament and the Council decided to set out a regulation, which contains concrete measures. The Commission is responsible to set out obligation for users, establish register of collections and best practices. The global mechanism for access and benefit sharing of the International Treaty on Plant Genetic Resources for Food and Agriculture is in line with the conditions of the Nagoya Protocol and the Standard Material Transfer Agreement is an internationally-recognised certificate of compliance. Recipients of genetic resources should order a certificate of compliance and should keep records of information about the material. Also an inventory of one's own material is recommended.

Keywords

Benefit sharing, biological diversity, conservation, genetic resources, material transfer

Einleitung

Das Nagoya-Protokoll ist eine internationale Vereinbarung auf Basis der Konvention über die biologische Vielfalt in Bezug auf den Zugang und Vorteilsausgleich (Artikel 15) von genetischen Ressourcen. Das Nagoya-Protokoll wurde bei der 10. Konferenz der Vertragsstaaten 2010 in Nagoya beschlossen und ist durch die Hinterlegung der 50. Ratifizierungsurkunde am 12. Oktober 2014 in Kraft getreten.

Die Europäische Union hat sowohl die Konvention über die biologische Vielfalt als auch den Internationalen Vertrag über Pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft unterzeichnet und ist daher auch Vertragspartei.

Elemente des Nagoya-Protokolls

Das Nagoya-Protokoll über Zugang und Vorteilsausgleich von genetischen Ressourcen bezieht sich auf alle gene-

tischen Ressourcen, ausgenommen humangenetische. Wird Material auf Basis anderer Mechanismen, wie z.B. mit dem *Standard Material Transfer Agreement* (SMTA) nach dem Internationalen Vertrag für Pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft (ITPGRFA) ausgetauscht, muss das Nagoya-Protokoll nicht angewandt werden bzw. gilt dies als Mechanismus für den Zugang und Vorteilsausgleich im Sinne des Nagoya Protokolls.

Weiters beziehen sich die Bestimmungen nicht nur auf das Material selbst, sondern auch auf das dazugehörige traditionelle Wissen. Dies ist insbesondere bei genetischem Material aus Entwicklungsländern bzw. von indigenen Gemeinschaften von Bedeutung, wo traditionelles Wissen (welches nicht allgemein bekannt ist) wertvolle Informationen über die Nutzung liefern kann. Indigene Gemeinschaften müssen daher nach diesem Protokoll der Nutzung von traditionellem Wissen zustimmen.

Die genetischen Ressourcen fallen unter die Souveränität des jeweiligen Staates (siehe auch Art. 3 und Art. 15 der Konvention über die biologische Vielfalt und Art. 10 des ITPGRFA). Dies bedeutet, dass der Staat bestimmen kann, unter welchen Bedingungen der Zugang zu seinen genetischen Ressourcen gewährt wird bzw. unter welchen Bedingungen diese weitergegeben werden. Die Nutzer der genetischen Ressourcen sollen zur Erhaltung der Vielfalt beitragen und eine grenzüberschreitende Zusammenarbeit soll erfolgen.

Für die Umsetzung des Protokolls muss jeder Staat eine nationale Anlaufstelle für Zugang und Vorteilsausgleich haben. Weiters muss die Nutzung von genetischen Ressourcen überwacht werden und Kontrollstellen eingerichtet werden, wo Informationen über die Nutzer eingefordert werden können. Für allfällige Streitbelegungen muss ein Zugang zu Gericht möglich sein und Entscheidungen durchsetzbar sein.

Für den Materialaustausch sollen sektorale Mustervertragsklauseln und freiwillige Verhaltensregeln für den Zugang und die Aufteilung der Vorteile erstellt werden. Schließlich sollen die Entwicklungsländer für die Erhaltung der Vielfalt unterstützt werden.

Für die Dokumentation des Materialtransfers soll ein Konformitätszertifikat ausgestellt werden, welches mindestens

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), Abteilung Pflanzengenetische Ressourcen, Wieningerstraße 8, 4020 LINZ, Österreich

* Ansprechpartner: Paul FREUDENTHALER, paul.freudenthaler@ages.at

folgende Punkte enthält, sofern es sich nicht um vertrauliche Daten handelt:

- (a) die ausstellende Behörde,
- (b) das Ausstellungsdatum,
- (c) den Bereitsteller,
- (d) das eindeutige Erkennungszeichen des Zertifikats,
- (e) die natürliche oder juristische Person, der die auf Kenntnis der Sachlage gegründete vorherige Zustimmung erteilt wurde,
- (f) den Gegenstand des Zertifikats oder die genetischen Ressourcen, auf die es sich bezieht,
- (g) die Bestätigung, dass einvernehmlich festgelegte Bedingungen vereinbart wurden,
- (h) die Bestätigung, dass die auf Kenntnis der Sachlage gegründete vorherige Zustimmung erlangt wurde,
- (i) kommerzielle und/oder nicht kommerzielle Nutzung.

Neben institutionellen Bestimmungen enthält das Protokoll im Anhang noch eine Liste von beispielhaft angegebenen finanziellen und nicht finanziellen Vorteilen. So sind unter finanziellen Vorteilen Zahlungen (z.B. Zugangsgebühren, Lizenzgebühren, Sondergebühren) sowie Forschungsmittel und Unternehmensbeteiligungen angeführt. Unter nicht finanziellen Vorteilen werden insbesondere Wissenstransfer (Schulungen, Teilhabe an wissenschaftlichen Ergebnissen) sowie Technologietransfer genannt.

EU-Verordnung zum Nagoya-Protokoll

Mit der EU-Verordnung wurden Regeln für die konkrete Umsetzung des Nagoya-Protokolls geschaffen: Verpflichtungen für Nutzer, wie z.B. Vorlage eines Konformitätszertifikats, Aufbewahrung von Aufzeichnungen mindestens 20 Jahre, Berichtspflichten und die Duldung von Kontrollen. Die Mitgliedsstaaten haben zuständige Behörden zu benennen, die die Einhaltung der Bestimmungen überwachen sollen. Die Überwachung durch die nationalen Behörden soll risikobasiert erfolgen. Die EU-Kommission wiederum hat dazu entsprechende Durchführungsbestimmungen zu erlassen.

Bei der Kommission wird ein Register über Sammlungen eingerichtet und die Mitgliedsstaaten haben zu prüfen, welche Sammlung in das Register aufgenommen wird. Für den Zugang und Vorteilsausgleich sollen auch bewährte Verfahren festgelegt werden bzw. können vorgeschlagen werden. Die EU richtet darüber ein Register ein und erläßt entsprechende Durchführungsbestimmungen.

Bei einem Materialtransfer nach dem ITPGRFA, also mit einem SMTA, werden die Bedingungen betreffend Konformitätszertifikat sowie entsprechenden den Aufzeichnungen erfüllt (Art. 4 Abs. 4 der EU-Verordnung).

Ergebnisse und Diskussion

Die EU-Verordnung regelt insbesondere die konkrete Vorgangsweise bei der Umsetzung des Nagoya-Protokolls für seine Mitgliedsstaaten und setzt institutionelle und verfahren-

rechtliche Maßnahmen. So werden eine gemeinsame Datenbank über Sammlungen eingerichtet und Durchführungsbestimmungen über Konformitätszertifikate, einschlägige Informationen und bewährte Verfahren erlassen.

Unter den gegebenen Umständen empfiehlt es sich, das SMTA wenn möglich anzuwenden. Die Verwendung des SMTA's wird als Konformitätszertifikat anerkannt und der Materialtransfer nach dem Internationalen Vertrag über Pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft kann als bewährtes Verfahren angesehen werden. Für den Bezug von Material sollen anerkannte Stellen bzw. verlässliche Bezugsquellen ausgewählt werden (z.B. öffentliche Genbanken). Darüber hinaus soll der Züchter insbesondere über Erhalt und Verwendung des Materials Aufzeichnungen führen bzw. aufbewahren. Aber auch für abgegebenes Material empfiehlt es sich entsprechende Aufzeichnungen zu führen. Über eigenes Material empfiehlt es sich, Aufzeichnungen zu führen und zu inventarisieren.

Literatur

- CONVENTION ON BIOLOGICAL DIVERSITY, 2014: The Nagoya Protocol on Access and Benefit-sharing. Secretariat of the Convention on Biological Diversity, Montreal. [<http://www.cbd.int/abs>; accessed 14 Jan 2015].
- EUROPÄISCHE UNION, 2014a: Verordnung (EU) Nr. 511/2014 des Europäischen Parlaments und des Rates vom 16. April 2014 über Maßnahmen für die Nutzer zur Einhaltung der Vorschriften des Protokolls von Nagoya über den Zugang zu genetischen Ressourcen und die ausgewogene und gerechte Aufteilung der sich aus ihrer Nutzung ergebenden Vorteile in der Union. Amtsblatt L 150, pp 59-71. Amt für Veröffentlichungen der Europäischen Union, Luxemburg. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2014:150:FULL&from=DE>; accessed 14 Jan 2015].
- EUROPÄISCHE UNION, 2014b: Protokoll von Nagoya über den Zugang zu genetischen Ressourcen und die ausgewogene und gerechte Aufteilung der sich aus ihrer Nutzung ergebenden Vorteile zum Übereinkommen über die biologische Vielfalt. Amtsblatt L 150, pp 234-249. Amt für Veröffentlichungen der Europäischen Union, Luxemburg. [<http://eur-lex.europa.eu/legal-content/DE/TXT/PDF/?uri=OJ:L:2014:150:FULL&from=DE>; accessed 14 Jan 2015].
- INTERNATIONAL TREATY ON PLANT GENETIC RESOURCES FOR FOOD AND AGRICULTURE, 2006: Standard Material Transfer Agreement. Secretary ITPGRFA, Rome. [<ftp://ftp.fao.org/ag/agg/planttreaty/agreements/smta/SMTAe.pdf>; accessed 14 Jan 2015].
- INTERNATIONAL TREATY ON PLANT GENETIC RESOURCES FOR FOOD AND AGRICULTURE, 2015: The multilateral system. Secretary ITPGRFA, Rome. [<http://www.planttreaty.org/content/multilateral-system>; accessed 14 Jan 2015].
- REPUBLIK ÖSTERREICH, 1995: Übereinkommen über die biologische Vielfalt samt Anlagen und Erklärung. BGBl. Nr. 213/1995, 24. März 1995. Bundeskanzleramt Österreich, Rechtsinformationssystem, Wien. [https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BgblPDF/1995_213_0/1995_213_0.pdf, accessed 14 Jan 2015; accessed 14 Jan 2015].
- REPUBLIK ÖSTERREICH, 2006: Internationaler Vertrag über Pflanzengenetische Ressourcen für Ernährung und Landwirtschaft samt Anlagen und Erklärung. BGBl. III Nr. 98/2006, 2. Juni 2006. Bundeskanzleramt Österreich, Rechtsinformationssystem, Wien. [https://www.ris.bka.gv.at/Dokumente/BgblAuth/BGBLA_2006_III_98/BGBLA_2006_III_98.pdf; accessed 14 Jan 2015].

Qualitätsstandards für neue Technologien in der Besatzbestimmung Quality standards for supporting advanced technologies in ‘Other Seed Determination’

Peter Deplewski^{1*}, Michael Kruse¹

Abstract

The routine determination of seeds of another species in a seed lot is one of three important tests which have to be performed according to the International Seed Testing Association before a seed lot is allowed by law to be placed on the market. Up to now this determination is performed by hand which is very time consuming and particularly costly. Thus, we want to give a quality standard how precise a machine has to work regarding the determination of other seeds. Hence, the different combinations of main seed component species and other seed species were grouped in the three classes ‘easy’, ‘moderate’ and ‘difficult’ according to the difficulty of sorting them out, *i.e.* the recovery rate of the other seeds in the main seed species component. Quantiles and confidence limits assuming a beta-binomial distribution were calculated by using this grouping structure and empirical data of proficiency tests. For example, the median recovery rate in the class ‘easy’ is 94%, whilst it is 83% in the class ‘moderate’ and 41% in the class ‘difficult’. The beta-binomial one-way 10% confidence border would be a recovery rate of 78% in the class ‘easy’ whilst it would be 53% in the class ‘moderate’ and 2% in the class ‘difficult’. These standards are unprecedented and can give advice to interested machine builders.

Keywords

Beta binomial distribution, confidence limit, seed testing, random distribution, recovery rate

Einleitung

Neben der Produktion und Vermarktung ist die effizientere Qualitätskontrolle mit neuen Technologien ein wichtiger Faktor für die zukünftige Saatgutproduktion. Die zahlenmäßige Bestimmung von Samen anderer Arten (ISTA 2014a), auch als Besatzuntersuchung bekannt, ist eine von drei wichtigen Saatgutqualitätsuntersuchungen und trägt zur hohen Qualität der auf dem Saatgutmarkt gehandelten Partien bei. Diese Untersuchung wird im Routinebetrieb in zeitaufwändiger und arbeitsintensiver Weise händisch durchgeführt, indem bei i. d. R. 25000 Samen einer Partie

bestimmt wird, wie viele Samen anderer Arten sich darunter befinden. In den vergangenen Jahren gab es einige Versuche seitens der privaten Industrie computergestützte Bildanalyseverfahren zu entwickeln mit deren Hilfe die Besatzuntersuchung vollautomatisiert durchgeführt werden kann. Diese Versuche werden nicht nur durch technische Probleme erschwert, sondern auch durch die Tatsache, dass es bisher keine gültigen Toleranzen hinsichtlich der durchschnittlichen Mindestwiederfindungsraten in der Besatzuntersuchung gibt: Firmen, die „Besatzuntersuchungsmaschinen“ bauen kommen sehr schnell mit der Frage auf, wie gut ihre Maschine mindestens funktionieren müsste, um im Routineuntersuchungsbetrieb akzeptabel zu sein. Laut Vorschriften der ISTA kann ein einzelner Same unter Umständen über die An- oder Aberkennung einer Partie unterscheiden. Die Konsequenz daraus wäre, dass eine Maschine 100% der Samen anderer Arten wiederfinden sollte. Jeder Same einer anderen Art sollte gefunden, separiert und nach Möglichkeit identifiziert werden. Die Antwort des Maschinenbauers ist normalerweise, dass das nicht möglich ist, da es meist eine Rate von fälschlicherweise nicht gefundenen Samen anderer Arten gibt. Nach weiterem Nachdenken kommt als nächstes die Frage auf, wie hoch die durchschnittlichen Wiederfindungsraten bei derzeit händisch durchgeführten Besatzuntersuchungen sind bzw. wie gut ein Saatgutanalyst im Durchschnitt eigentlich arbeitet? Wenn die Maschine so gut wie der Analyst oder besser arbeitet, sollte sie akzeptabel sein. An dieser Stelle muss sich der Saatgutwissenschaftler eingestehen, dass es hierfür bis dato noch keinen kompletten Datensatz gab, anhand dessen Qualitätsstandards wie z.B. Mindestwiederfindungsraten abgeleitet werden können. Die Wiederfindungsraten müssen nicht 100% betragen aber wir können nicht sagen, welche Mindestwiederfindungsraten akzeptabel sein sollten.

Unser Ziel war es daher Wiederfindungsraten in der Besatzbestimmung anhand empirischer Daten zu berechnen, um so aufzeigen zu können, wie gut eine Maschine arbeiten sollte, um akzeptabel zu sein. Unser Ziel ist hierbei nicht, Toleranzen für die ISTA abzuleiten, sondern, neben der Berechnung von Konfidenzgrenzen auch aufzuzeigen, wie bereits existierende Datensätze zusammengefügt werden können, um Zukunftstechnologien durch die Definition von eindeutigen Mindeststandards zu unterstützen.

¹ Fg. Saatgutwissenschaft und -technologie (350D), Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik (350), Universität Hohenheim, Fruwirthstraße 21, 70593 STUTTGART, Deutschland

* Ansprechpartner: Peter DEPLEWSKI, Deplewski_peter@uni-hohenheim.de

Material und Methoden

Es wurden die Ergebnisse von 27 teilweise internationalen Ringversuchen ausgewertet. Bei diesen Ringversuchen wurden insgesamt 64 verschiedene Partien als Hauptsaatgutkomponenten verschickt. Pro Ringversuch nahmen zwischen 15 und 102 Labore teil. Insgesamt wurden also bei 1656 Proben Besatzuntersuchungen durchgeführt. Die Ringversuche fanden zwischen 1996 und 2012 statt. Ringversuche der ISTA sind nicht enthalten. Die Hauptsaatgutkomponenten repräsentierten insgesamt 17 Arten aus 13 Gattungen. Pro Saatgutprobe der jeweiligen Hauptsaatgutkomponente, die an das jeweilige Labor verschickt wurde, wurden zum Teil mehrere Samen von bis zu 10 anderen Arten zugesetzt. An jeder solchen Probe wird in jedem Labor eine Besatzuntersuchung durchgeführt. Damit konnten pro Besatzuntersuchung bis zu 10 Wiederfindungsraten berechnet werden, so dass insgesamt 7861 Wiederfindungsraten berechnet werden konnten. Insgesamt wurden 21756 Samen aus 161 anderen Saatgutarten den 64 Ringversuchspartien bzw. 1656 Proben zugesetzt, womit sich 269 verschiedene Kombinationen aus Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten ergaben.

Die Samen anderer Arten wurden als korrekt bestimmt gewertet, wenn sie zumindest bis auf die Gattungsebene korrekt bestimmt wurden, da dies dem Prinzip der ISTA-Vorschriften entspricht. Damit beinhaltet die jeweilige Wiederfindungsrate das Auffinden der jeweiligen Samen und ihre korrekte Bestimmung auf Gattungsebene. Wiederfindungsraten von mehr als 100% wurden als 100% genommen. Wiederfindungsraten von mehr als 100% können z.B. auftreten, wenn zufälligerweise in der Saatguthauptkomponente schon ein oder mehrere Samen der jeweiligen Besatzkomponente vor dem künstlichen Zusetzen der Besatzkomponente enthalten waren. Wiederfindungsraten von mehr als 100% traten sehr selten auf, so dass durch das Abschneiden der Wiederfindungsraten bei 100% keine signifikante Verzerrung der hier präsentierten Ergebnisse entsteht. Basierend auf den Wiederfindungsraten wurden pro Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombination mittlere Wiederfindungsraten und ihre Streuung in Form der Varianz berechnet.

Diese mittleren Wiederfindungsraten waren nicht konstant über alle Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen, sondern zeigten eine sehr große Streuung. So wird ein Weizensame als Besatzkomponente in einer Grassaatgutprobe z.B. sehr leicht gefunden, was bei dieser Kombination zu einer hohen Wiederfindungsrate führt, während es eine große Herausforderung sein kann, ihn in einer weizenähnlichen *Triticale*-Probe wiederzufinden, was bei dieser Kombination zu einer niedrigen Wiederfindungsrate führt. Daher haben zwei Besatzbestimmungsprofis die Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen anhand der Schwierigkeit sie auszusortieren bewertet

und in eine der drei Schwierigkeitsklassen „einfach“, „mittel“ oder „schwer“ eingeteilt. Den Profis waren die anhand des Datensatzes empirisch bestimmten Wiederfindungsraten dabei nicht bekannt. Um die Konsistenz dieser Bewertung durch die beiden Profis zu überprüfen, wurde die Klasseneinteilung anschließend mit den empirischen Wiederfindungsraten in einem linearen Modell (CHAMBERS 1992) und generalisierten linearen Modellen (HASTIE und PREGIBON 1992) mit jeweils binomialer-, quasibinomialer-, und beta-binomialer (LESNOFF und LANCELOT 2012) Linkfunktion mit der nominalen Einflussvariable Klasse und der semiquantitativen Ergebnisvariable Wiederfindungsrate oder Wiederfindungsvarianz getestet.

Quartile und oder kumulative Verteilungsfunktionen der Wiederfindungsraten wurden für jede einzelne Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombination und zusätzlich mithilfe der mittleren Wiederfindungsraten der einzelnen Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen für jede der drei Klassen berechnet. Zudem wurde jeweils mit Hilfe der Beta-Binomialverteilung (YEE 1996) die einseitige 10% Konfidenzgrenze für die Wiederfindungsrate berechnet (Tabelle 1, die Wiederfindungsraten jeder einzelnen der 269 Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen sind auf Anfrage erhältlich). Für die kumulativen Verteilungsfunktionen der drei Klassen wurden polynomiale Regressionsfunktionen bestimmt, die ihnen in der Form folgen, dass das jeweilige Bestimmtheitsmaß $R^2 > 0,99$ ist.

Alle Berechnungen wurden mit der Statistiksoftware R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2013) durchgeführt. Der Quellcode für die Berechnungen ist auf Anfrage erhältlich.

Ergebnisse

Von den 269 Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen wurden 234 als „einfach“, 29 als „mittel“ und nur 6 als „schwer“ bewertet. Als „schwer“ wurden namentlich homozygot fatuoider Saat-Hafer (*Avena sativa*) in Saat-Hafer, Acker-Senf (*Sinapis arvensis*) in Raps (*Bras-*

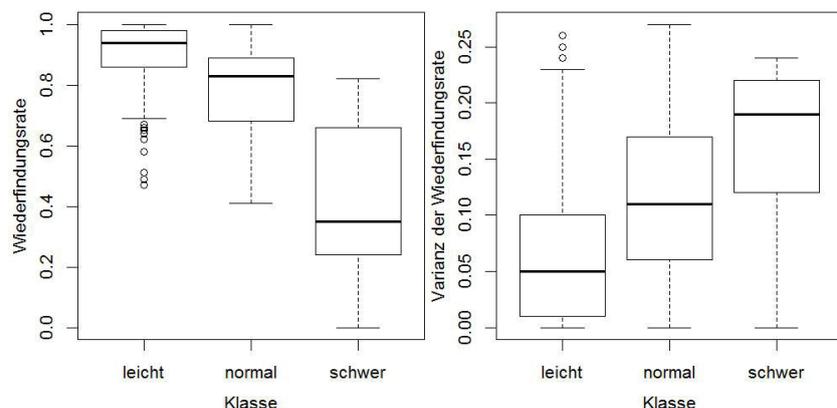


Abbildung 1: Boxplots der 269 mittleren (a) Wiederfindungsraten der 269 Hauptsaatgutkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen und ihrer Varianzen (b) in den drei Klassen „einfach“, „mittel“ und „schwer“

Figure 1: Boxplots of the 269 means (a) of the 269 detection rates of main species - other species combinations and variances (b) grouped according to the classes “easy”, “moderate” and “difficult”.

sica rapa), Festulolium in Raublättrigem Schaf-Schwingel (*Festuca trachyphylla*), Grannenloser Schafschwingel (*F. filiformis*) in Raublättrigem Schaf-Schwingel, zwei- oder sechszeilige Gerste (*Hordeum vulgare*) in Gerste und Wiesenrispe (*F. pratensis*) in Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne*) bewertet. Die Boxplots in *Abbildung 1* geben einen Überblick über die mittleren Wiederfindungsraten pro Klasse und ihre Varianzen.

Die drei Histogramme der 7861 einzelnen Wiederfindungsraten, sortiert in die drei Klassen (mit 6765 Wiederfindungsraten in Klasse „einfach“, 943 Wiederfindungsraten in Klasse „mittel“ und 153 Wiederfindungsraten in Klasse „schwer“), in *Abbildung 2* haben jeweils zwei Gipfel, einmal bei 0% und einmal bei 100%. Dies wird dadurch verursacht, dass ein einzelner zugesetzter Same einer anderen Art entweder gefunden wurde (\rightarrow 100%) oder nicht gefunden wurde (\rightarrow 0%). Wurden zwei Samen derselben Art als andere Art bzw. Besatz zugesetzt, sind Wiederfindungsraten von 0%, 50% und 100% möglich, usw. Die Histogramme zeigen, dass in der Klasse „einfach“ Wiederfindungsraten von 100% häufiger auftreten als in der Klasse „schwer“. In der Klasse schwer wiederum traten Wiederfindungsraten von 0% viel häufiger auf als in den anderen beiden Klassen. *Abbildung 2a* zeigt aber auch, dass es selbst in der Klasse „einfach“ 520 Wiederfindungsraten (das entspricht 8% aller Wiederfindungsraten in dieser Klasse) von 0% gibt, während es 5761 Wiederfindungsraten (entspricht 85%) von 100% gibt. *Abbildung 2c* zeigt hingegen, dass es in der Klasse „schwer“ 67 Wiederfindungsraten (das entspricht 44% aller Wiederfindungsraten in dieser Klasse) von 0% gibt und 73 Wiederfindungsraten (entspricht 48%) von 100%.

Auf Basis der Daten, die in *Abbildung 1* dargestellt sind, wurden für jede der drei Klassen empirische kumulative Verteilungsfunktionen berechnet und polynomische Funktionen angepasst (*Abbildung 3*). Diese Verteilungen und Funktionen können nun in der folgenden Weise angewendet werden: Sollte eine Maschine zum Sortieren von Besatz besser sein, als die schlechteren 75% der Wiederfindungsraten bzw. Analysten, sollten im Falle der Klasse „einfach“ 98% der zugesetzten Samen wiedergefunden werden, im Falle

der Klasse „mittel“ 88% und im Falle der Klasse „schwer“ 62%. Diese Werte, die 75% Quartile, die auch als Minimum-Wiederfindungsraten bzw. Konfidenzgrenzen betrachtet werden können, sind auch in *Tabelle 1* dargestellt. Jede Minimum-Wiederfindungsrate kann direkt von den empirischen kumulativen Verteilungsfunktionen in *Abbildung 3* abgeleitet werden oder mithilfe der ihnen angepassten polynomischen Funktionen bestimmt werden.

Die polymodale Verteilung die bei der Klasse „schwer“ leider auch dann noch besteht, wenn mit durchschnittlichen Wiederfindungsraten für die einzelnen Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen gerechnet wird, stellt ein Problem für die verwendeten statistischen Modelle dar was zu einer suboptimalen Modellanpassung in diesen Fällen führt. Nichtsdestotrotz sind in *Tabelle 1* die einseitigen 10% Konfidenzgrenzen für die drei Klassen aufgeführt, die mithilfe des Beta-Binomialmodells berechnet wurden, da dieses sich als das am besten angepasste Modell gezeigt hat. Die Beta-Binomialverteilung berücksichtigt wie die Binomialverteilung die Schräge der empirischen Verteilung. Zudem kann sie, im Gegensatz zur Binomialverteilung, eine zusätzliche Streuung berücksichtigen, der Wert Rho in *Tabelle 1* zeigt, dass eine solche zusätzliche Streuung, auch als Überdispersion bezeichnet, in diesem Fall vorliegt. Gäbe es keine zusätzliche Streuung zur Zufallsstreuung, wäre der Wert Rho 0, umgekehrt kann er bis zum Wert 1 ansteigen.

Der Einfluss der Klassen „einfach“, „mittel“ und „schwer“ als erklärende Variable auf die Ergebnisvariable Mindestwiederfindungsrate oder ihre Varianz ist hochsignifikant im GLM mit logistischer Linkfunktion.

Diskussion und Ausblick

Bis jetzt gab es keine ausreichende stimmige quantitative Basis, um sagen zu können, wie gut die Wiederfindungsraten bzw. Analysten/Labore bei der traditionellen Besatzuntersuchung wirklich sind. Ringversuche, insbesondere zur Besatzuntersuchung werden jedes Jahr von der EU, der ISTA und dem Verband deutscher landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA) durchgeführt, werden bisher aber nicht hinsichtlich dieses Qualitätsmerkmals, der Wiederfindungsrate, ausgewertet.

Daher wurden in dieser Studie exemplarisch Ringversuchsdaten zusammengestellt und ausgewertet, um quantifizieren zu können, wie gut Besatzuntersuchungen im Durchschnitt durchgeführt werden und wie unterschiedlich die Ergebnisse der Teilnehmer sind. Das Ergebnisse sind keine eindeutigen Toleranzen, die ab sofort Gültigkeit haben, sondern Optionen: Mittelwerte der Wiederfindungsraten, Mediane der Wiederfindungsraten, andere Quantile der Wiederfindungsraten, jeweils für eine der drei Klassen oder für jede einzelne der Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen.

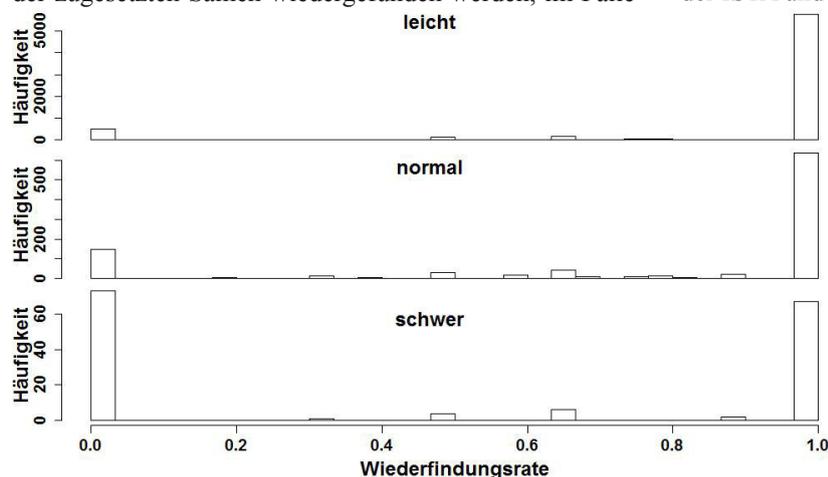


Abbildung 2: Histogramme der insgesamt 7861 Wiederfindungsraten in den drei Klassen „einfach“, „mittel“ und „schwer“.

Figure 2: Histograms of the altogether 7861 detection rates for each of the three classes „easy“, „moderate“ and „difficult“.

Tabelle 1: Empirischen Quartile der mittleren relativen Wiederfindungsraten in den drei Klassen „einfach“, „mittel“ und „schwer“ und die Kennzahlen μ , ρ und CI der angepassten Beta-Binomialverteilungen. 50% Quartil (Median) gibt pro Klasse an, dass in 50% der Fälle die Wiederfindungsrate geringer, in 50% höher als der relative Wert in dieser Spalte war. μ gibt die mit der Beta-Binomialverteilung geschätzten Mittelwerte an, die Dispersionsparameter¹. CI gibt die einseitigen 10% Konfidenzgrenzen an².

Table 1: Empirical quartiles of relative detection rates per classes 'easy', 'medium' and 'difficult' and the values μ , ρ and CI as derived by the beta binomial distribution. 50% quartile (median) indicated per class that in 50% of the cases, the detection rate was lower, in 50% the rate was higher than the given relative values. μ represents the means of the classes as estimated based on the beta binomial distributions; ρ is the dispersion parameter ($\rho=0$ if the empirical variance is not bigger than expected, otherwise ρ can increase to a value of almost 1). CI gives the beta binomial one-sided 10% confidence limits (i.e. in only 10% of the cases the detection rate was estimated to be lower than the given values).

Klasse	Empirische Quartile					Beta-Binomialverteilung		
	0%	25%	50%	75%	100%	μ	ρ	CI
einfach	0,41	0,87	0,94	0,98	1,00	0,91	0,10	0,78
mittel	0,24	0,68	0,83	0,88	1,00	0,76	0,14	0,53
schwer	0,00	0,17	0,41	0,62	0,82	0,36	0,38	0,02

¹ $\rho=0$, wenn die empirische Varianz nicht größer ist als die erwartete Zufallsstreuung, andernfalls kann ρ fast bis zum Wert Eins ansteigen

² Schätzung, dass in nur 10% der Fälle die Wiederfindungsrate geringer als der angegebene Wert ist

Diese Maßzahlen sind jedoch ohne Präzedenz und sollen Maschinenentwicklern und -bauern als Unterstützung dienen, die an der zukünftigen Automatisierung der Besatzuntersuchung arbeiten.

Toleranztabellen für die maximal erlaubte Streuung von Wiederholungen sind nicht zielführend, um die Frage zu beantworten, wie viele Samen anderer Arten mindestens gefunden werden müssen. Maximale Streuweiten, wie in den ISTA-Tabellen 4A, 4B oder 5B bis 5E (ISTA 2014b) und/oder wie sie der ISO-Standard 5725-2 (ISO 1994) vorgibt, überprüfen nur ob die Differenz zwischen dem niedrigsten Ergebnis und dem höchstem Ergebnis eine bestimmte tolerierte Bandweite überschreitet. Der Maschinenbauer auf der anderen Seite will vielleicht gerade signifikant unterschiedlich (d.h. besser) von den anderen Ergebnissen sein, so dass das Überschreiten der maximalen Bandweite am oberen Ende der Verteilung in dem Fall ein gewolltes Ergebnis sein kann. Daher sind Mindestwiederfindungsraten die bessere Wahl.

Die Berechnung der Mindestwiederfindungsraten bzw. Konfidenzgrenzen bei der Besatzuntersuchung wurde dadurch erschwert, dass die Anzahl der Versuchsglieder pro einzelner berichteter Wiederfindungsrate sehr niedrig war - es wurden nie viele fremde Samen einer Art zur Saatguthauptkomponente zugegeben - und dass die Verteilung der Wiederfindungsraten nicht von der Zufallsstreuung abhängig war, sondern vom Können der Labore bzw. Analysten. Letztere führten in vielen Fällen zu einer höheren Streuung, d.h. zu einer Überdispersion, in den analysierten Daten.

Dies führt in manchen Fällen dazu, dass die einseitigen 10% Konfidenzgrenzen für die einzelnen Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen bei Wiederfindungsraten von 0% liegen. Um dieses Problem zu umgehen, wurde die Klasseneinteilung vorgenommen und die Konfidenzgrenzen, die in *Tabelle 1* angeführt sind und die kumulativen Verteilungsfunktionen in *Abbildung 3* auf Basis der mittleren Wiederfindungsraten der einzelnen Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen berechnet. Da die Wiederfindungsraten der einzelnen Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen jedoch Unterschiede auch innerhalb der drei Klassen zeigen, können die auf Anfrage erhältlichen einzelnen Wiederfindungsraten und Konfidenzgrenzen für jede einzelne Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen als Orientierung dienen.

Die Methodik im Bereich der Saatgutuntersuchung ist eher traditionell. In der Bodenuntersuchung kommen jährlich neue Ansätze und Methoden auf den Markt. Was sind die Gründe für den Konservatismus in der Saatgutuntersuchung? Analysen hier sind keine Messungen, sondern Schätzungen, sie basieren auf

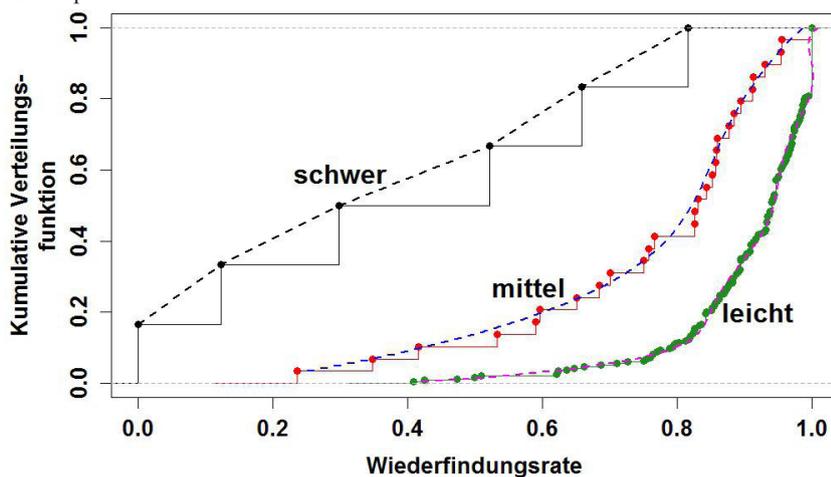
persönlichem Können und Erfahrung. Neue Technologien werden mit sehr hohen Anforderungen und Erwartungen konfrontiert. Nichtsdestotrotz wird auch die Zukunft der Saatgutuntersuchung im wesentlichen davon beeinflusst, wie gut neue Technologien von der Saatgutkontrolle und vom Saatguthandel unterstützt, eingeführt und akzeptiert werden, da die traditionellen Methoden (sie sind arbeitsintensiv, zeitaufwändig und benötigen geschultes Personal) vom Markt immer weniger akzeptiert werden. Daher sollten Standardisierungsvereinigungen wie die ISTA Strategien entwickeln, um diesen neuen Technologien zu helfen, in den Routineuntersuchungsbetrieb Einzug zu finden. Dies sollte nicht nur durch die Definition von Qualitätsstandards bezüglich technischer Aspekte sondern auch bezüglich qualitativer Aspekte der Methodik geschehen. Dabei schon vorhandene Daten aus Ringversuchen zu nutzen ist ein hilfreicher und sinnvoller Ansatz.

Danksagung

Ein großer Dank geht an Herrn Dipl.biol. Jochen Pfäfflin für seinen essentiellen Beitrag bei der Bestimmung der Schwierigkeitsklassen hinsichtlich der Aussortierung der Samen anderer Arten aus den Saatguthauptkomponenten. Desweiteren würden wir uns gerne bei der landwirtschaftlichen Umwelt- und Forschungsanstalt in Hameln bedanken, die alle Ringversuchsdaten zur Verfügung gestellt hat und natürlich bei allen Analysten und Verantwortlichen, die die Ringversuche organisiert und durchgeführt haben - ohne sie wäre die Zusammenfassung in Form dieser Arbeit nicht möglich gewesen.

Abbildung 3: Kumulative Verteilungsfunktionen der 269 mittleren Wiederfindungsraten der 269 Saatguthauptkomponenten-Besatzkomponenten-Kombinationen der drei Klassen „einfach/leicht“, „mittel“ und „schwer“. Polynomiale Regressionsfunktionen der kumulativen Verteilungsfunktionen: 'einfach': $x = 120,8940y^7 - 466,8783y^6 + 729,9188y^5 - 592,7345y^4 + 266,7795y^3 - 65,8983y^2 + 8,5419y + 0,3863$; $R^2 = 0,9953$; 'mittel': $x = -1,3816y^4 + 4,9331y^3 - 6,0064y^2 + 3,2973y + 0,1446$; $R^2 = 0,9946$; 'schwer': $x = -2,3918x^5 + 2,9922x^4 - 0,335x^3 + 0,6511x^2 - 0,3033x + 0,3886$; $R^2 = 0,998$. Wenn eine höhere Wiederfindungsrate als die schlechteren 25% der Labore oder Analysten erreicht werden soll: auf der Y-Achse bei 0,25 ansetzen und den X-Wert der jeweiligen Klasse beim Schnittpunkt mit der strichlierten Kurve ablesen.

Figure 3: Cumulative distribution functions of the mean detection rates of the main species - other species combinations per class 'easy', 'moderate' and 'difficult'. Polynomial regression functions of the cumulative distribution functions for the classes (i) easy: $x = 120.8940y^7 - 466.8783y^6 + 729.9188y^5 - 592.7345y^4 + 266.7795y^3 - 65.8983y^2 + 8.5419y + 0.3863$; $R^2 = 0.9953$; (ii) moderate: $x = -1.3816y^4 + 4.9331y^3 - 6.0064y^2 + 3.2973y + 0.1446$; $R^2 = 0.9946$; (iii) difficult: $x = -2.3918y^5 + 2.9922y^4 - 0.335y^3 + 0.6511y^2 - 0.3033y + 0.3886$; $R^2 = 0.998$. Graph interpretation: if a higher detection rate than the worse 25% of laboratories or analysts is required: start at the y-axis at 0.25 and go to the x-axis until the intersection with the cumulative distribution function of the respective class is reached.



Literatur

CHAMBERS JM, 1992. Chapter 4, Linear models. In: CHAMBERS JM, HASTIE TJ (Eds.), Statistical models in S, pp 95-144. Wadsworth & Brooks/Cole, Pacific Grove, USA.

HASTIE TJ, PREGIBON D, 1992. Chapter 6, Generalized linear models. In: CHAMBERS JM, HASTIE TJ (Eds.), Statistical Models in S, pp 195-248. Wadsworth & Brooks/Cole, Pacific Grove, USA.

ISTA, 2014a: Zahlenmäßige Bestimmung von Samen anderer Arten. Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut, Kapitel 4. International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf, Schweiz.

ISTA, 2014b. Die Bestimmung der Keimfähigkeit. Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut, Kapitel 5. International Seed Testing Association (ISTA), Bassersdorf, Schweiz.

LESNOFF M, LANCELOT R, 2012: aod: Analysis of overdispersed data. R package version 1.3 [<http://cran.r-project.org/package=aod>].

YEE TW, WILD CJ, 1996. Vector generalized additive models. J Roy Stat Soc B 58: 481-493.

ISO, 1994: ISO 5725-2 - Accuracy (trueness and precision) of measurement methods and results - Part 2: Basic method for the determination of repeatability and reproducibility of a standard measurement method [http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=11834]. Published Corrigenda 2002: ISO 5725-2:1994/Cor 1:2002 [http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_tc/catalogue_detail.htm?csnumber=36202]. International Organization for Standardization (ISO), Geneva, Switzerland.

R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Wien, Österreich [<http://www.R-project.org>].



Ist für die Berechnung der Aussaatmenge die Triebkraft praxisgerechter als die Keimfähigkeit? Calculation of the sowing rate: does the vigour value give more information for sowing than the germination value?

Benno Voit^{1*}, Berta Killermann¹

Abstract

Backtracing complaints with respect to unsatisfying field emergences it becomes in most cases evident that the farmers didn't make any mistakes in calculating the sowing rate. This raises the question if it wouldn't be better to calculate the sowing rate by using the vigour value instead of the germination value. Many comparative studies have shown that differences between vigour and germination with respect to field emergence are low provided that the seed is not damaged. However, if the seed is damaged mechanically or by sprouting the seed vigour decreases strongly with a resulting lower field emergence. The vigour test, however, takes twice as long as the germination test. Additionally, standardization of vigour tests are much more difficult than germination tests.

Keywords

Cereals, field emergence, germination, maize, seed vigour

Einleitung

Bei der Rückverfolgung von Reklamationen wegen schlechtem Feldaufgang fällt immer wieder auf, dass vom Landwirt die Berechnung der Aussaatmenge korrekt vorgenommen wurde und trotzdem der Feldaufgang unbefriedigend ist. Es stellt sich die Frage, ob es nicht praxisgerechter wäre, anstelle der Keimfähigkeit die Triebkraft zur Berechnung der Aussaatmenge zu verwenden. Diese Frage wird nachfolgend betrachtet.

Material und Methoden

Keimfähigkeit

Die Keimprüfung erfolgt im sterilen Keimmedium (Sand, Papier) bei optimaler Temperatur, meist 20 oder 25°C (ISTA 2014). Mit dieser Standardisierung wird eine sehr hohe Einheitlichkeit bei den Untersuchungsergebnissen erzielt. Die Keimergebnisse zwischen den Laboren sind damit gut vergleichbar. Dies ist der Hauptgrund warum die Keim-

fähigkeit im Anerkennungsverfahren als entscheidendes Kriterium verwendet wird. Der Nachteil des Keimergebnisses ist, wie die Praxis immer wieder zeigt, dass zwischen dem Keimergebnis im Labor und dem Feldaufgang eine erhebliche Differenz liegen kann.

Triebkraft

Triebkraftprüfungen werden nicht im sterilen Keimmedium (meist Ackererde) und bei einer „Stresstemperatur von 10°C“ durchgeführt (ISTA 1995). Die Bedingungen für dieses Prüfverfahren liegen damit näher an den tatsächlichen Auflaufvoraussetzungen auf dem Feld. Als Nachteil erweist sich die mangelnde Vergleichbarkeit der Triebkrafteergebnisse zwischen den Laboren, da die Standardisierbarkeit der Erde das größte Problem bei diesen Testverfahren darstellt. Aus diesem Grund finden Triebkraftuntersuchungen im Anerkennungsverfahren keine Anwendung. Hinzu kommt, dass Triebkraftuntersuchungen mit 14 Tagen nahezu doppelt solange dauern als Keimprüfungen. Bei den Triebkraftprüfungen wird unterschieden zwischen direkten und indirekten Verfahren. Von einem direkten Verfahren spricht man wenn das Saatgut in einer Erdrolle oder Erdschale zum Keimen gebracht wird. Beim indirekten Verfahren werden die Samen nicht zum Keimen gebracht, sondern einem physikalischen Meßverfahren unterzogen (z. B. Leitfähigkeitstest). Dazu werden Samen in Bechergläser eingeweicht. Anschließend wird die elektrische Leitfähigkeit des Quellwassers gemessen. Der Messwert wird in $\mu\text{S cm}^{-1} \text{g}^{-1}$ ausgedrückt und erlaubt eine Einschätzung für die Triebkraft.

Ergebnisse und Diskussion

Getreide

Um den Unterschied zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft zu sehen, wurden 9 Triticalevermehrungen zufallsgemäß, sowie eine Reklamationsprobe aus der Ernte 2014, ausgewählt und auf beide Kriterien untersucht (*Abbildung 1*). Bei der Hälfte der Proben bestand zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft nur ein geringer Unterschied. Zwei Proben zeigten eine Differenz von knapp 10 % und 2 Proben hatten einen Unterschied von mehr als 10%. Am größten war die Differenz bei der Reklamationsprobe mit über 35%.

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Labor 2, Lange Point 6, 85354 FREISING, Deutschland

* Ansprechpartner: Benno VOIT, Benno.Voit@lfl.bayern.de

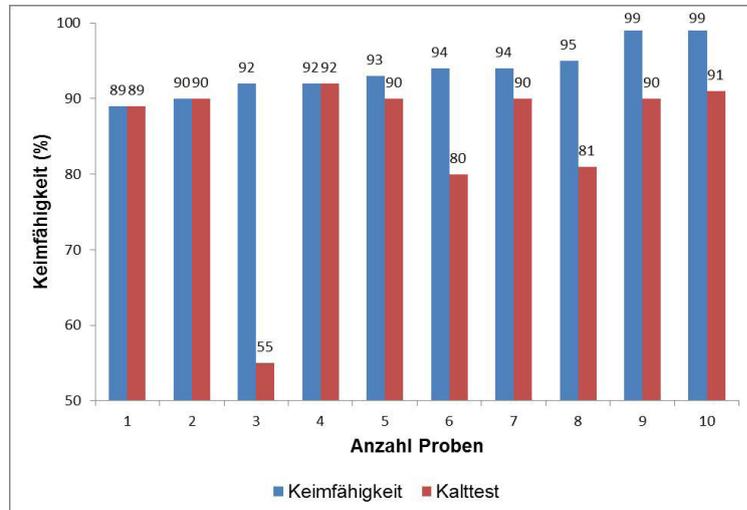


Abbildung 1: Keimfähigkeits- und Triebkraftwerte von neun zufällig ausgewählten Triticalevermehrungen sowie einer Reklamationsprobe aus der Ernte 2014

Figure 1: Germination and vigour of nine randomly selected triticale seed samples and a complaint sample from 2014

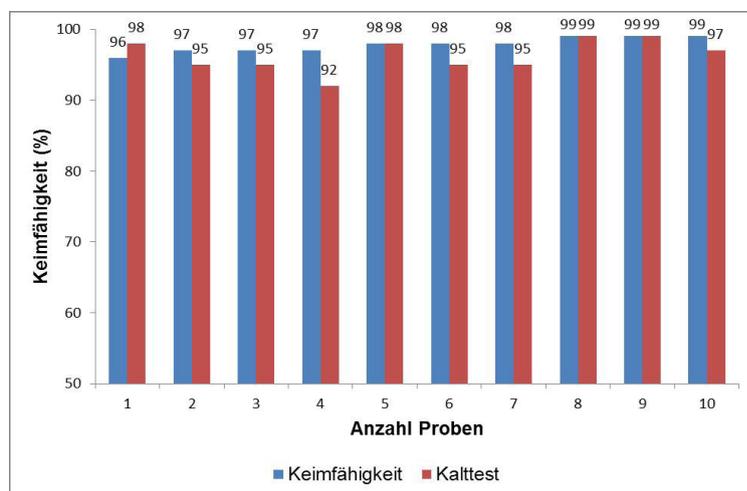


Abbildung 2: Keimfähigkeits- und Triebkraftwerte von zehn zufällig ausgewählten Weizenvermehrungen aus der Ernte 2014

Figure 2: Germination and vigour values of ten randomly selected wheat seed samples from 2014

Was sind die Ursachen für den großen Unterschied zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft? Ein Grund für den Unterschied sind Auswuchskörner. Bei der Betrachtung der Reklamationsprobe unter dem Mikroskop fällt auf, dass sich eine Reihe leicht ausgewachsener Körner in der Probe befinden. Unter den optimalen Bedingungen in der Keimprüfung wachsen die leicht angekeimten Körner weiter, während in der Triebkraftprüfung unter Stressbedingungen die Körner nicht mehr wachsen. Die gleichen Beobachtungen konnten bei sehr scharf gedroschenem Gerstensaatgut gemacht werden. Körner, die völlig entspelzt waren, haben in der Keimprüfung noch gekeimt, aber in der Triebkraftprüfung zu einem völlig unbefriedigenden Ergebnis geführt. Mängel am Saatgut, die den Feldaufgang

beeinflussen treten bei der Triebkraftprüfung deutlicher auf als in der Keimprüfung.

Der Vergleich von Keimfähigkeit und Triebkraft wurde ebenfalls an zehn zufällig ausgewählten Weizenvermehrungen aus der Ernte 2014 durchgeführt (Abbildung 2). Die Ergebnisse zeigen, dass bei fast allen Partien der Unterschied zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft sehr gering ist. Lediglich bei Probe 4 beträgt die Differenz 5%.

Das heißt, dass für Weizen bei normalem Ernteverlauf zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft kein nennenswerter Unterschied besteht. Doch wie verhält es sich in schwierigen Jahren, z. B. bei stärkerem Fusariumbefall wie z. B. im Jahr 2012. In Abbildung 3 sind die Ergebnisse dargestellt. Insgesamt liegt durch den Pilzbefall das Keimniveau niedriger. Der Unterschied zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft ist nicht größer als in Normaljahren.

Gelten diese Aussagen auch für Öko-Weizensaatgut? In Abbildung 4 sind die Ergebnisse von zehn zufällig ausgewählten Öko-Weizensaatgutproben aus der Ernte 2014 dargestellt. Bei mehr als zwei Drittel der Proben ist die Differenz zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft sehr gering. Bei lediglich einer Probe beträgt die Differenz 11%. Die Triebkraft liegt noch über 80%. Nach unseren Erfahrungen reichen Triebkraftwerte von 80 % für einen guten Feldaufgang noch aus. Aus Sicherheitsgründen geben die Ökoverbände auf den Saatgutetiketten den Keimfähigkeits- und Triebkraftwert an, so dass es dem Landwirt freigestellt ist nach welchem Kriterium er die Berechnung der Aussaatmenge vornimmt.

Mais

Die meisten Reklamationen erhält das Saatgullabor bei Mais wegen schlechtem Feldaufgang. Mais ist im Vergleich zu Getreide eine C4-Pflanze und hat damit einen höheren Wärmebedarf. In diesem Zusammenhang interessiert der Unterschied Keimfähigkeit und Triebkraft besonders. Dazu wurde Maissaatgut mit hoher und niedriger Keimfähigkeit im Labor untersucht und anschließend auf den zwei Standorten Rotthalmünster und Freising angebaut. Als hohe Saatgutqualität wurden Partien

mit einer Keimfähigkeit von >95% bezeichnet. Partien mit Keimfähigkeitswerten zwischen 90 und 92% werden als niedrig bezeichnet (Tabelle 1). Bei den Saatgutpartien mit Keimfähigkeiten >95% lag bei allen Partien die Triebkraft nur geringfügig unter der Keimfähigkeit, während bei dem Saatgut mit niedriger Keimfähigkeit größere Unterschiede zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft festgestellt wurden. In Einzelfällen lag der Triebkraftwert bis zu 30% niedriger als die Keimfähigkeit (VOIT et al. 2010). Nur bei Sorte B zeigt sich auch bei der niedrigen Saatgutqualität zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft ein geringer Unterschied von 3%.

Beim Feldaufgang wird der Aufgang von der jeweils hohen Saatgutqualität 100 gesetzt. Der Feldaufgang von der

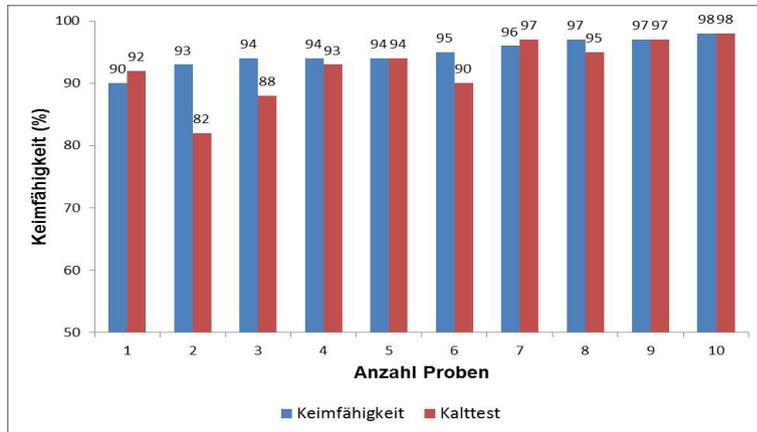


Abbildung 3: Keimfähigkeits- und Triebkraftwerte von zehn zufällig ausgewählten Weizenvermehrungen aus dem Fusariumjahr 2012

Figure 3: Germination and vigour values of ten randomly selected wheat seed samples from 2012 with heavy Fusarium infestation

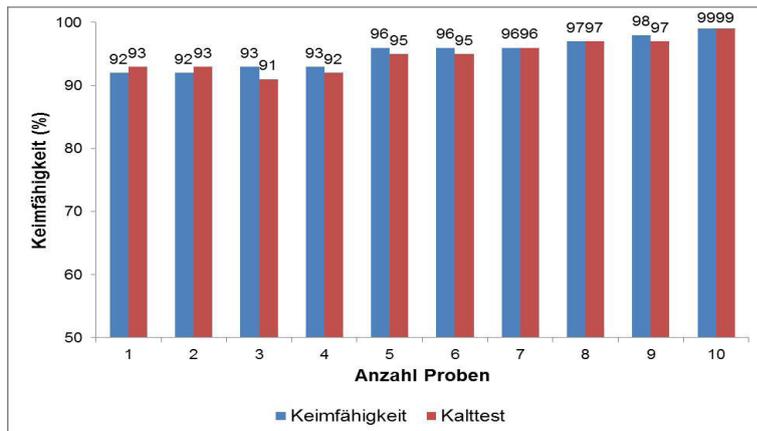


Abbildung 4: Keimfähigkeits- und Triebkraftwerte von zehn zufällig ausgewählten Öko-Weizenvermehrungen aus der Ernte 2014

Figure 4: Germination and vigour values of ten randomly selected organically produced wheat samples from 2014

Tabelle 1: Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag von fünf Maissorten mit jeweils hoher und niedriger Saatgutqualität auf den Standorten Rothalmünster (RM) und Freising (FS)

Table 1: Germination, vigour, field emergence and yield of five maize varieties with high and low seed quality each at the sites Rothalmünster (RM) and Freising (FS)

Sorte	Saatgutpartien Qualität	Keimfähigkeit (%)	Triebkraft (%)	Feldaufgang		Ertrag	
				RM relativ	FS relativ	RM relativ	FS relativ
A	hoch	97	94	100	100	100	100
A	niedrig	92	62	86	97	91	95
B	hoch	98	97	100	100	100	100
B	niedrig	91	88	88	95	94	99
C	hoch	96	95	100	100	100	100
C	niedrig	91	80	92	96	94	95
D	hoch	95	92		100	100	100
D	niedrig	90	78		89	93	95
E	hoch	96	98		100	100	100
E	niedrig	92	85		96	91	97

jeweils niedrigen Saatgutqualität wurde relativ zur hohen Saatgutqualität berechnet. Auf dem Standort Rothalmünster war der Feldaufgang stets niedriger als am Standort Freising. Ursache dafür ist, dass in Rothalmünster die Aussaat um 14 Tage früher erfolgte und der Boden damit noch kälter war. Bei den niedrigen Saatgutqualitäten lag auf beiden Standorten der Feldaufgang unter den Ergebnissen mit den hohen Saatgutqualitäten. Der schwächere Feldaufgang schlug sich letztlich auch auf den Ertrag nieder. Um durchschnittlich 5% wurde bei den niedrigen Saatgutqualitäten weniger geerntet.

Zusammenfassung

Bei Getreidesaatgut das keine Mängel aufweist und gebeizt ausgesät wird, ist die Differenz zwischen Keimfähigkeit und Triebkraft gering. Mängel am Saatgut (Auswuchs, mechanische Beschädigungen) führen zu deutlich niedrigeren Triebkraftwerten und letztlich auch zu Reklamationen beim Feldaufgang. Öko-Getreidesaatgut wird in Bayern hauptsächlich unbehandelt ausgesät, deshalb wird auf dem Sackanhänger sowohl die Keimfähigkeit als auch die Triebkraft angegeben. Maissaatgut verhält sich ähnlich wie Getreidesaatgut. Partien mit hoher Keimfähigkeit weisen auch eine hohe Triebkraft auf und umgekehrt. Niedrige Keimfähigkeits- und Triebkraftwerte führen auch zu geringeren Erträgen.

Triebkraftprüfungen dauern länger als Keimfähigkeitsprüfungen und deutlich länger als TTC-Untersuchungen. Darüberhinaus sind Triebkraftprüfungen schwieriger standardisierbar und unterliegen größeren Schwankungen beim Vergleich der Ergebnisse zwischen den Laboren.

Literatur

ISTA, 1995: Handbook of vigour test methods. International Seed Testing Association (ISTA), Zürich, Switzerland.

ISTA, 2014: International rules for seed testing (Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut). International Seed Testing Association (ISTA), Zürich, Switzerland.

VOIT B, SCHNELLHAMMER R, EDER J, KILLERMANN B, 2010: Einfluss von Keimfähigkeit und Triebkraft auf den Feldaufgang von Mais, Kongressband 2010, 21.-24. Sept., Kiel. VDLUFA-Schriftenreihe 66: 560- 565. VDLUFA-Verlag, Darmstadt.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage von Saatgut Österreich (<http://www.saatgut-austria.at/>-Tagungsarchiv-Tagungsband 2014) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.



Seed germination of *Silphium perfoliatum* L. and *Sida hermaphrodita* L., and technological measures for its improvement

Markus Gansberger^{1,2*}, Manfred Weinhappel¹, Philipp von Gehren^{1,2},
Andreas Ratzenböck¹, Peter Liebhard², Josef Mayr¹

Abstract

Silphium perfoliatum L. and *Sida hermaphrodita* L. are new alternative energy crops that are currently planted as pre-cultured seedlings. Sowing is currently not practical, as the not prepared seeds have low germinability and there is a lack of experience concerning appropriate sowing conditions. Different laboratory tests were conducted to determine factors influencing germination, to answer the question of dormancy, and to develop technological measures to achieve a high seed quality. The final aim of this basic work will be to develop a seed technology for *Silphium* and *Sida* to get a high field emergence.

The factors 'medium', 'light', 'temperature', 'pre-treatment' and 'pre-chilling' were examined regarding their influence on germination of *S. perfoliatum*. The germination test method was based on observing these factors in two to four different levels, e.g. three different temperature levels, to determine the optimal level. In total, 144 combinations or methods were tested in eight replicates with 50 seeds and two different seed lots (Lot A, Lot B).

The germination test procedure for *S. hermaphrodita* was similar but with slightly different levels, and included the factors 'lot', 'light', 'temperature', 'pre-treatment' and 'pre-chilling'. Pleated paper was utilized as medium and only four replicates with 50 seeds were used.

In addition, different seed processing procedures were checked during the germination tests to get a higher seed quality for seed lot A of *S. perfoliatum*. Moreover, seed pills were developed in consideration of the laboratory results of the germination tests.

The results of the germination tests of *S. perfoliatum* showed that fresh seeds are dormant, and stratification or pretreatment with KNO₃ and GA₃ have positive effects on germination. However, the factor temperature had the most significant effect, as changing temperatures with high temperature amplitudes were found to be particularly favorable. As a result of the test series, the following germination method can be derived for *S. perfoliatum*: medium: pleated paper; light: 12 h light, 12 h dark; pre-chilling: 7 d at 5°C; temperature: 20-30°C; pre-treatment: GA₃.

All factors, except pre-chilling, showed a significant effect on the germination of *S. hermaphrodita*. The optimal set of factors was determined to be no treatment with the fungicide thiram, germination in the dark, changing temperatures between 20 and 30°C every 12 h and pre-treatment with GA₃.

From all tested possibilities aiming to increase seed quality for *S. perfoliatum* the combination sieving machine and gravity separator was found to be the most advantageous. After processing seed lot A had a purity of 99.1% and a viability of 97.5%. The production of seed pills was also successful, so that mechanical sowing is feasible without much doubt.

Acknowledgements

The work was carried out within the projects *Bioenergy-Silphium* and *SIDeCA*, funded by the Climate and Energy Fund and conducted under the programs 'New Energies 2020' and 'e!MISSION'. We would like to thank Dr. Karl Moder, BOKU, and Dr. Hans-Peter Stüger, AGES, for assistance in statistical design and analysis. Many thanks to Cimbria Heid GmbH, Stockerau, for support and cooperation in the development of a processing method of harvest material to obtain high seed quality, and Kwizda Agro GmbH, Marchtrenk, for support and design of seed pills for *S. perfoliatum*.

References

- GANSBERGER M, MONTGOMERY LFR, LIEBHARD P, 2015: Botanical characteristics, crop management and potential of *Silphium perfoliatum* L. as a renewable resource for biogas production: a review. *Ind Crops Prod* 63: 362-372. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.09.047
- SOKOLOV VS, GRITSAK ZI, 1972: *Silphium* - a valuable fodder and nectariferous crop. *World Crops* 24: 299-301.
- STANFORD G, 1990: *Silphium perfoliatum* (cup-plant) as a new forage. In: SMITH DD, JACOBS CA (Eds), *Recapturing a Vanishing Heritage*, Proc 12th North Amer Prairie Conf, pp 33-38. University of Northern Iowa, Cedar Falls.
- TRÖLENBERG SD, KURSE M, JONITZA A, 2012: Verbesserung der Saatgutqualität bei der Durchwachsenen Silphie (*Silphium perfoliatum* L.). In: *Nachhaltigkeitsindikatoren für die Landwirtschaft: Bestimmung und Eignung*, 124. Kongress, Passau. VDLUFA-Schriftenreihe 68: 926-933. Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (VDLUFA)-Verlag, Darmstadt.
- TROXLER J, DACCORR, 1982: *Silphium perfoliatum* L.: An interesting fodder? *Rev Suisse Agric* 14: 279-281.

¹ Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), Division for Food Security, Institute for Seed and Propagating Material, Phytosanitary Service and Apiculture, Spargelfeldstrasse 191, 1220 VIENNA, Austria.

² University of Natural Resources and Life Sciences Vienna (BOKU), Department of Crop Sciences, Division of Agronomy, Augasse 2-6, 1090 VIENNA, Austria.

* Corresponding author: Markus GANSBERGER, markus.gansberger@ages.at



Establishment of *Silphium perfoliatum* L. by sowing

Philipp von Gehren^{1,2*}, Markus Gansberger^{1,2}, Manfred Weinhappel¹, Peter Liebhard²,
Andreas Ratzenböck¹, Josef Mayr¹

Abstract

To achieve a higher degree of biodiversity in the agricultural landscape, governments, researchers, biogas plant operators and farmers are constantly looking for alternative crops for biogas production with a high biomass yield. One promising plant is *Silphium perfoliatum* L., a perennial, up to 3 m tall C3 plant in the family *Asteraceae* with multiple yellow flowers with certain ecological assets. During the first year of cultivation a quick and complete establishment of this crop is desired to ensure sufficient biomass yields in consecutive years. So far *S. perfoliatum* has been established by planting pre-grown seedlings, a time- and cost-intensive method. Establishment of the plant via sowing is hindered at present by seeds with low germination capacity and inappropriate seed flow characteristic. To overcome these challenges, trials to get ready for sowing seeds combined with temporal sequence of sowing were carried out.

Following a split-plot design we conducted a field experiment in which we tested the effect of date of sowing and seed pretreatment on germination rate. On five separate dates, nine different seed pretreatment variations were sown in quadruple repetition. The dates ranged from end of April to mid-June with 14 days in between respectively. The pretreatment of the seeds included an untreated control group, 24 h soaking in 0.2% KNO₃ solution, 24 h soaking in 0.05% GA₃ solution, application of the fungicide thiram, stratification for seven days at 7°C and four different seed coatings with implemented GA₃. Due to inappropriate seed flow characteristics, only the coated seeds could be sown mechanically with a deposition depth of 1 cm. To monitor the establishment of the crop, the germination rate was determined. Additionally, the leaf area index and the ground cover were measured once.

Significant differences could be noticed in the germination rate of different pretreated seeds. In general, cold stratified seeds and seeds soaked for 24 h in 0,05% GA₃ showed the highest and quickest germination rate, whereas the untreated control group and the application of the fungicide thiram were associated with low germination rates. Coated seeds reached maximum germination rates of up to 68,5% at the earliest sowing date. All five sowing dates showed a similar pattern with a decreased

germination rate at an advanced growing season. A rapid and high germination rate also correlates with a high leaf area index and a high ground cover.

By using coating as a pretreatment and a sowing date at the end of April we could achieve an early closing of rows and an ensuing successful establishment of the crop. Coated seeds were able to overcome the problem of the inappropriate flow characteristics of *S. perfoliatum* seeds when sown mechanically, while the implemented GA₃ helped to increase germination rate. Overall we are confident that the establishment of *S. perfoliatum* with an early and complete closure of rows can be achieved by mechanical sowing of appropriate processed and prepared seeds, thus offering a less time- and cost-intensive method with a highly practical use in bioenergy crop agriculture.

Acknowledgments

The work is content of the project 'Bioenergy-Silphium (Increase of the biomass production with *Silphium perfoliatum* L. for energetic use in Austria)' which is funded by the Climate and Energy Fund and conducted under the programs 'New Energies 2020'. For assistance in the design of the experimental model and in the statistical analysis we would like to thank Karl Moder (BOKU). We gratefully thank Kwizda Agro GmbH for their support and design of seed coating.

References

- BIERTÜMPFEL A, REINHOLD G, GÖTZ R, ZORN W, 2013: Leitlinie zur effizienten und umweltverträglichen Erzeugung von Durchwachsener Silphie. Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL), Jena.
- GANSBERGER M, MONTGOMERY LFR, LIEBHARD P, 2015: Botanical characteristics, crop management and potential of *Silphium perfoliatum* L. as a renewable resource for biogas production: a review. *Ind Crops Prod* 63: 362-372. DOI: 10.1016/j.indcrop.2014.09.047
- SOKOLOV VS, GRITSAK ZI, 1972: Silphium - a valuable fodder and nectariferous crop. *World Crops* 24: 299-301.
- STANFORD G, 1990: *Silphium perfoliatum* (cup-plant) as a new forage. In: Recapturing a Vanishing Heritage. 12. North American Prairie Conference, University of Northern Iowa, Cedar Falls, 33-38.
- VETTER A, CONRAD M, BIERTÜMPFEL A, 2010: Optimierung des Anbauverfahrens für Durchwachsene Silphie (*Silphium perfoliatum* L.) als Kofermentpflanze in Biogasanlagen sowie Überführung in die landwirtschaftliche Praxis (Abschlussbericht No. 42.32.430). Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft (TLL), Jena.

¹ Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), Division for Food Security, Institute for Seed and Propagating Material, Phytosanitary Service and Apiculture, Spargelfeldstrasse 191, 1220 VIENNA, Austria.

² University of Natural Resources and Life Sciences Vienna (BOKU), Department of Crop Sciences, Division of Agronomy, Augasse 2-6, 1090 VIENNA, Austria.

* Corresponding author: Philipp VON GEHREN, pvgehren@gmail.com



Isolation and characterization of endophytes isolated from seeds of different plants and the application to increase juvenile development

Friederike Trognitz^{1*}, Katja Piller¹, Manuela Nagel², Andreas Börner², Carl-Florian Bacher¹,
Marie Rechlik¹, Hanna Mayrhofer¹, Angela Sessitsch¹

Abstract

Endophytes are microorganisms, which live part of their life time inside the plant and do not cause any symptoms of disease in the plant. In the last years there is growing evidence that endophytes play an important role in plant growth and health. The role of seed endophytes is still underestimated. It is likely that every plant species harbors a different set of endophytes, but like in maize a core microbiome exists across boundaries of evolution, ethnography and ecology. Bacterial endophytes could play a role in germination and seedling growth. In our study we isolated endophytes of seeds from different plant genotypes and species. The isolated bacteria were tested on seeds to determine if specific endophytes can promote germination or juvenile development. We found a genotype specific response to the applied endophytes. Endophytes promoted the germination in some genotypes, whereas no effect was observed with other genotypes. Additionally we found a strong inhibition of fungal growth on seeds, when endophytes were applied.

Keywords

seed development, seed germination, soybean, wheat

Introduction

A high germination rate of seeds and fast seedling development are fundamental for plant productivity. Seed associated bacteria have shown to be involved in plant performance (TRUYENS et al. 2013). Direct plant growth promotion mechanisms involve nitrogen fixation, mobilization of nutrients like phosphorus and iron by production of organic acids and siderophores, production of phytohormones like auxin, gibberellin and cytokinins and elevation of stress ethylene production by 1-aminocyclopropane-1-carboxylate (ACC) deaminase (MITTER et al. 2013). Indirect interaction with the plant occurs through competition for space and nutrients, antibiosis, production of hydrolytic enzymes, inhibition of toxins and induction of plant defense mechanisms (TRUYENS et al. 2014). Seed endophytes are of special interest, because they might be transmitted from generation to generation. In soil they can rapidly infect new generation of plants, because they colonize the plant at an early stage, experience less competition with bacterial surrounding the

seeds and are adapted to live inside the plants. In rice seeds, seed endophytes were found to be members of the plant-associated bacterial community at early plant growth stages (HARDOIM et al. 2012). They predominately colonize plant shoots, where they find less competition with surrounding bacteria as compared with the diverse microflora in the rhizosphere or soil. The importance of seed endophytes was shown by PUENTE et al. (2009a). By eliminating endophytes from cactus seeds, seedling development was stopped. The role of seed endophytic bacteria does not seem to be different from those found in other plant tissues. Especially under suboptimal conditions the endophytes from seeds can increase plant growth due to the production of plant hormones like indole-3-acetic acid (IAA), cytokinin, or ACC deaminase. In cactus the seed endophytes allowed the germination and growth under extreme harsh conditions. These seed endophytes were able to release inorganic nutrients such as phosphorus from pulverized rock through the production of organic acids and possessed the capacity to fix nitrogen (PUENTE et al. 2009b). In other experiments under suboptimal conditions like phytoremediation, it was reported that tobacco inoculated with its seed endophytes increased the biomass production under cadmium exposure and Cd uptake as compared to non-inoculated plants (MASTRETTA et al. 2009).

Several reports have shown that endophytes isolated from seeds show antifungal activity. *Bacillus* and *Microbacterium* isolated from seeds of switchgrass inhibited the growth of fungal mycelia due to the production of toxin such as the lipopeptides surfactin and iturin and mycobacillin (GAGNE-BOURGUE et al. 2013). But also other bacterial strains have shown anti-fungal activity like the *Enterobacter* strains isolated from rice seeds, which showed activity against *Rhizoctonia solani*, *Pythium myriotyrum*, *Guamannomyces graminis* and *Heterobasidion annosum* probably due to the production of a volatile anti-fungal compound (MUKHOPADHYAY et al. 1996).

Due to their wide range of anti-fungal activities different bacterial genera can be used as biocontrol agents, e.g. against damping off diseases, especially for diseases where no fungicides are available or in organic farming. However, more research is needed to elucidate the mechanisms of seed colonization, plant genotype specificity, seed endophyte dispersal, vertical transmission and application practices.

¹ AIT Austrian Institute of Technology, Konrad Lorenz Straße 24, A-3430 TULLN, Austria

² Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) OT Gatersleben, Corrensstrasse 3 06466 STADT SEELAND, Germany

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

The data obtained in this study represent a starting point to explore and exploit the diversity of seed endophytes from genebank accessions of wheat, where a genotype dependent longevity was observed. The study was conducted to find out if different wheat accessions show different bacterial communities and if different storage conditions of seeds influence the seed microflora. Endophytes were isolated and then used to improve the germination of seed lots with a low germination rate. Overall, the aim was to identify bacterial seed endophytes, which can be applied in agriculture to accelerate seed germination under adverse conditions.

Material and methods

Seed surface sterilisation

Seeds were surface sterilized by immersing them in 70% ethanol for 1 minute, followed by soaking the seeds for 15 minutes in 3.5% sodium hypochlorite containing 0.05% Tween-20. Seeds were finally washed six times in sterile Milli-Q water. All steps were conducted in sterile plastic boxes (Magenta™ vessel GA-7, Magenta Corporation, Chicago, IL, USA) and the seeds were transferred between the boxes with sterile forceps and sterile metal wires. After the final wash the seeds were grinded in 4 mL of 0.9% NaCl-solution with a pestle. From this slurry a dilution series were prepared with 0.9% NaCl solution. From each step (undiluted, 10^{-1} , 10^{-2} and 10^{-3}) 100 μ l were plated on R2A agar plates and incubated for 24 h at 28°C. From each plate the single colonies were taken with a loop and plated on fresh R2A-agar plates. The isolates were stored at 4°C after 24 h of growth and additional a glycerol stock was prepared.

Characterization of bacterial endophytes by analysis of the 16S rRNA gene

With autoclaved toothpicks, single colonies were taken from the R2A-plates and dispensed in 50 μ l of autoclaved and filtered Milli-Q water. Subsequently the cell walls were cracked by boiling the solution for 10 min at 94°C. After spinning the precipitation down at 2000 rpm for 2 min, 2 μ l of supernatant were taken out and mixed with 18 μ l of a master mix containing 1 \times PCR buffer (SolisBiodyne, Tartu, Estonia), 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTPs and 1 U Firepol (Solis Biodyne) and 0.3 μ M of primer 8f (5'-AGAGTTTGTATCCTGGCTCAG-3') and 0.3 μ M of primer 926r (5'-CCGTCAATTCCTTT(AG)AGTTT-3'). The PCR conditions were as follows: 95°C for 5 min followed by 30 cycles of 95° for 30 s, 53°C for 45 s and 72°C for 90 s. The final elongation step was at 72°C for 10 min. The PCR products were sequenced by LGC Genomics GmbH (Berlin, Germany) with primer 8f. The 16S rRNA gene sequences of each isolate were subjected to BLAST analysis using the NCBI genome database.

Seed inoculation with selected endophytes

Seeds were soaked in the bacterial suspension with an OD of 0.2 for 30 min. Depending on the experiment seeds were used without sterilization or were surface sterilized as described above. For wheat, the sterilized seeds were placed for the first test on 1.5% H₂O agar plates (21°C, 46% humidity, and 16 h light). For the greenhouse tests with selected bacterial strains the seeds were sown directly in the soil without surface sterilization. For wheat we obtained different accessions from IPK Gatersleben (Table 1). For soya different varieties were obtained from the breeding company Saatzeit Donau (Probstdorf, Austria).

Results and discussion

Isolation of wheat endophytes

From the wheat accessions 125 bacterial isolates were identified. Most isolates were obtained from the short living landraces under both storage conditions and from the short living cultivar stored under cold temperature (-20°C). The highest diversity of different bacterial genera was found in the short living cultivar stored under cold. Most of the wheat accessions harbored *Bacillus* strains except the long living landrace. In the long living landrace only isolates belonging to *Curtobacterium* could be found, probably being all identical strains as determined by 16S rRNA gene sequence analysis. To gain more knowledge on the bacterial community a next generation sequencing approach will be applied to the microbiome associated with seeds and seedlings from the different wheat accessions under the different storage conditions.

From the 125 bacterial isolates, 45 were selected based on their taxonomy for the germination assays. From the 45 isolates 39 strains were tested three times on a Ukrainian accession, additional obtained from the IPK Gatersleben and four strains were tested only once on the Ukrainian accession. This accession showed without inoculation a very low germination rate with 7% of total seedlings (TS). Due to the treatment with the selected isolates an improvement of up to 20% could be reached for one strain. The 10 best performing strains were tested on the original seeds from the genebank and 6 strains improved germination in all accessions. Two of the best performing strains were isola-

Table 1: Spring wheat samples obtained from IPK Gatersleben (TS = total seedlings germination; NS = normal seedlings germination)

Genotype	Storage	Sample ID	Harvest year	Origin ¹	TS (%)	NS (%)
Long-living landrace	Room temperature	LLA	2003	ARM	80.5	64.0
Long-living landrace	-20°C	LLC	2003	ARM	92.5	76.5
Short-living landrace	Room temperature	KLA	2003	ARM	9.0	3.0
Short-living landrace	-20°C	KLA	2003	ARM	92.0	85.0
Long-living cultivar	Room temperature	LZA	1998	ARG	42.5	20.0
Long-living cultivar	-20°C	LZC	1998	ARG	86.5	80.0
Short-living cultivar	Room temperature	KZA	1998	MEX	21.5	3.5
Short-living cultivar	-20°C	KZC	1998	MEX	89.0	81.5

¹ ARG, Argentina; ARM, Armenia; MEX, Mexico

ted from the long living landrace stored under cold, three endophytes came from the short living land race stored under room temperature and one strain came from the long living cultivar stored at room temperature. These strains belong to *Bacillus* (3), *Paenibacillus* (2) and *Pantoea* (1). These 6 strains were tested further on three different breeding lines first in vitro and second in the greenhouse. On the breeding lines we could observe a genotype specific reaction to the six strains, but overall two strains increased the germination of at least two breeding lines. One strain showed up to 50% increased germination in vitro compared to the control treatment. The three best performing strains will be tested further under field conditions.

To determine the plant growth promotion potential of the six best performing endophytic strains, leaves and roots of the in vitro plants were measured. Under sterile conditions an increase of leaf length and root length was observed in some bacterial/genotype treatments. Especially seedlings inoculated with the *Pantoea* strain showed under lab condition a significantly increase in shoot length in the Austrian variety.

Under non-sterilized conditions we have observed that the seeds inoculated with the endophytes showed significantly less fungal growth than the seeds without endophytes. The treated seedlings were healthy and showed a normal growth whereas the seedlings without treatment were overgrown by fungi, and the development of the seedlings were abnormal (Figure 1). This shows the potential of endophyte application as bio-control agents for seedborne disease. Therefore additional experiments will be conducted to see which seedborne diseases could be controlled by the endophyte application.

Isolation of soybean endophytes

For the isolation of soybean endophytes we obtained five different varieties from Saatzucht Donau, which belong to two different maturity groups and show different protein content. The endophytes were isolated from seeds and seedlings after 1, 2, 3 or 5 days of germination. The most abundant genus in soybean was *Bacillus*, followed by *Paenibacillus*, *Pseudomonas* and *Pantoea*. In total 225 endophytes were isolated and tested on soybean for their potential to increase the germination and to speed up the juvenile development. Because under normal conditions the germination rate of the non-inoculated variety was about 90% it was not expected to improve the germination significantly by inoculation. Therefore we focused on the earliness of the

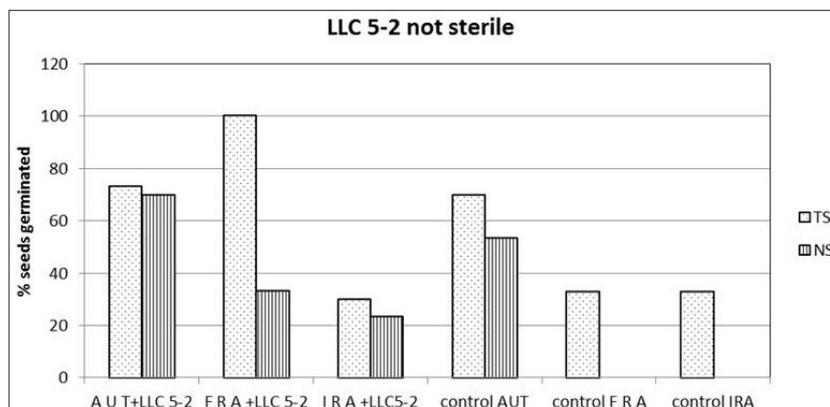


Figure 1: Influence of wheat seed inoculation with a selected *Pantoea* strain on the germination performance (TS, total seedlings germination; NS, normal seedlings germination, AUT, variety from Austria; variety from FRA, France; IRA, variety from Iran)

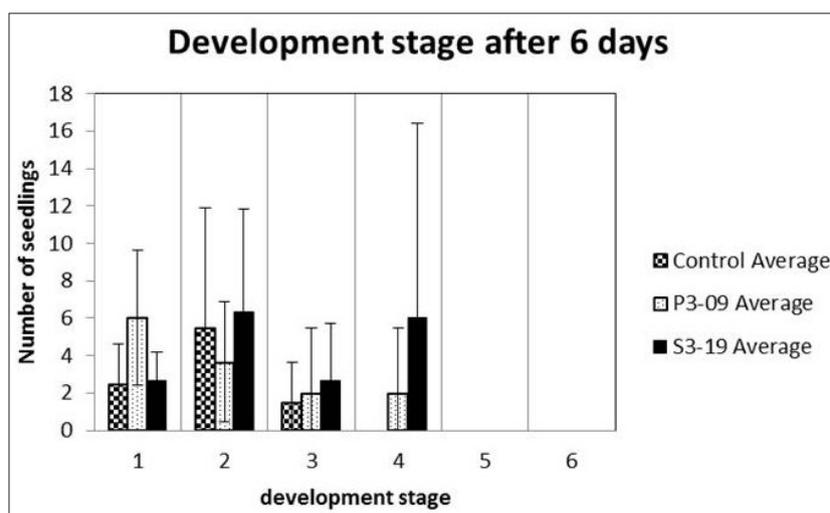


Figure 2: Improvement of soybean seedling development in soya through the inoculation with two different endophytes.

plant development. The germination process was classified in six stages, beginning with the germination until the first true leaves were completely developed. Figure 2 shows the improvement of the development through the inoculation with two different endophytes. At day six after putting the seeds in soil, the inoculated seeds already reached the stage four of the germination process, whereas none of the control seeds reached this stage at this time point. The results are preliminary and have to be confirmed also under different temperatures to ensure that these endophytes promote plant development also under suboptimal conditions.

The presented data show that seed endophytes are a rich source for plant growth promoting bacteria. Because of their specialization to live inside the seeds, they are well adapted to harsh conditions like during seed storage. This makes them to good candidates for the use as plant growth promotion bacteria in agriculture. However more research is needed to find out determinants which allow seed colonization and the genetic background of the beneficial interaction with the plant.

References

- GAGNE-BOURGUE F, ALIFERIS KA, SEGUIN P, RANIM, SAMSON R, JABAJS, 2013: Isolation and characterization of indigenous endophytic bacteria associated with leaves of switchgrass (*Panicum virgatum* L.) cultivars. *J Appl Microbiol* 114: 836-853. DOI: 10.1111/jam.12088.
- HARDOIM PR, HARDOIM CCP, VAN OVERBEEK LS, VAN EL-SAS JD, 2012: Dynamics of seed-borne rice endophytes on early plant growth stages. *PLoS One* 7: e30438. DOI: 10.1371/journal.pone.0030438.
- MASTRETTA C, TAGHAVI S, VAN DER LELIE D, MENGONI A, GALARDI F, GONNELLI C, BARAC T, BOULET J, WEYENS N, VANGRONSVELD J, 2009: Endophytic bacteria from seeds of *Nicotiana tabacum* can reduce cadmium phytotoxicity. *Int J Phytoremediat* 11: 251-267. DOI: 10.1080/15226510802432678.
- MITTER B, BRADER G, MUHAMMAD A, COMPANT S, MUHAMMAD N, TROGNITZ F, SESSITSCHA, 2013: Advances in elucidating beneficial interactions between plants, soil and bacteria. *Adv Agron* 121: 381-445. DOI: 10.1016/B978-0-12-407685-3.00007-4.
- MUKHOPADHYAY K, GARRISON N, HINTON D, BACON C, KHUSH G, PECK H, DATTA N, 1996: Identification and characterization of bacterial endophytes of rice. *Mycopathol* 134: 151-159. DOI: 10.1007/BF00436723.
- PUENTE ME, LI CY, BASHAN Y, 2009a: Rock-degrading endophytic bacteria in cacti. *Env Exp Bot* 66: 389-401. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2009.04.010.
- PUENTE ME, LI CY, BASHAN Y, 2009b: Endophytic bacteria in cacti seeds can improve the development of cactus seedlings. *Env Exp Bot* 66: 402-408. DOI: 10.1016/j.envexpbot.2009.04.007.
- TRUYENS S, WEYENS N, CUYPERS A, VANGRONSVELD J, 2014: Bacterial seed endophytes: genera, vertical transmission and interaction with plants. *Env Microbiol Rep*, in press. DOI: 10.1111/1758-2229.12181.

Optomachines: Saatgutanalyse mit Bildverarbeitungsmessgeräten High-throughput phenotyping of seed characteristics through image analysis

François Paradis^{1*}

Abstract

Optomachines produces special measuring and monitoring machines for seeds, combining high resolution imaging and digital weighing. Based on automatic image analysis the devices allow plant breeders and seed researchers to count and weight seeds in a reliable and fast way. The integrated software is user-friendly and facilitates the easy storage of data and images and easy determination of biometric data. Optomachines' machines are highly efficient and easy to use.

Keywords

Image analysis, seed analysis, thousand grain weight

Einleitung

Die Firma Optomachines, im Jahr 1999 in Frankreich gegründet, entwickelt und stellt Messgeräte mit Bildverarbeitung her mit dem Ziel die Arbeit der Pflanzenzüchter und Saatgutforscher zu erleichtern, die zeitaufwendige Kornzählungen und Messungen am Saatgut durchführen müssen, dies jedoch einfach und effizient erfolgen soll.

Kornzählung und Tausendkorngewicht mit 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 Bildverarbeitungssoftware erfasst wobei ein Algorithmus automatisch die aneinanderliegenden Körner trennt und separat verarbeitet. Die benötigte Zeit zur Bestimmung des Tausendkorngewichtes (TKG) bzw. zum Zählen von ca. 600 Hartweizenkörnern oder ca. 3000 Rapskörnern beträgt zehn Sekunden. Bei der routinemäßigen Verwendung muss keine Einstellung geändert werden, keine Reinigung des Gerätes vorgenommen werden und auch das Untersuchungsmaterial muss nicht verändert werden. Durch einfaches Auswählen der untersuchten Pflanzenart am Display ist bereits alles vorprogrammiert. Die Daten (CSV

Format) und die Bilder werden automatisch gespeichert. Kunden berichten, dass sie während der Hochsaison bis zu 600 Messungen pro Tag mit dem Opto Agri (www.optomachines.fr/Files/optomachines_optoagristandard_en.pdf) durchführen.

Die Reproduzierbarkeit der Messergebnisse wurde durch einen unabhängigen Experten festgestellt. *Tabelle 1* gibt die Wiederholbarkeit und die Reproduzierbarkeit bei verschiedenen Kulturarten gegenüber der Vergleichsmessung wider. Dabei wurde die Wiederholbarkeit durch zehn aufeinanderfolgende Messungen derselben Probe ohne Änderungen (zehn aufeinanderfolgende Bilder) gemessen. Die Reproduzierbarkeit wurde an Hand von 20 Messungen derselben Probe festgestellt, wobei in diesem Fall aber die Probe jedes Mal neu in das Gerät eingeführt wurde.

Die Auflösung von Opto Agri ist ca. 0,1 mm und die Messgenauigkeit liegt unter 0,9% (ausgenommen Sonnenblumen). Waage (0,01 g) und Computer sind im Gerät integriert um Platz zu sparen und eine bessere Ergonomie und Messzuverlässigkeit zu bekommen. Der PC ist einfach mit dem Netz verbunden, um eventuell Datenimport oder Export zu machen. Ein Anschluss für ein Barcodelesegerät ist vorgesehen.

Mit Opto Agri kann weiters die Körnerbiometrie und die Blattfläche gemessen werden. Außerdem ist Optomachines auf Kundenwunsch auch in der Lage spezifische Programme zu entwickeln (z.B. Erfassung der Biometrie von Rapsschoten, Biometrie von Weizenähren, etc.) und diese Programme im Nachhinein an Geräten via Internet zu installieren. Eine spezifische Konfiguration für sehr kleine Samen (<2 mm; z.B. Gemüsesamen) ist vorhanden. Die

Tabelle 1: Genauigkeit des Opto Agri bei unterschiedlichen Kulturarten

Table 1: Accuracy of Opto Agri for different crops (maize, rapeseed, durum wheat, bread wheat, barley, sunflower, sorghum)

Merkmal ¹	Mais	Raps	Hartweizen	Weichweizen	Gerste	Sonnenblume	Sorghum
Körneranzahl	400	1000	600	470	490	200	1120
Gewicht (g)	118,69	6,22	29,06	16,08	24,82	16,56	35,97
Vergl. TKG (g)	296,73	6,22	48,43	34,21	50,65	82,8	32,12
Tol. Wdh. Gew. (%)	0	0,22	0	0	0	0,56	0,22
Tol. Wdh. TKG (%)	0,07	0,22	0,14	0,12	0,02	0,65	0,24
Tol. Rep. Zählen (%)	0,19	0,42	0,48	0,39	0,33	1,95	0,3
Tol. Rep. TKG (%)	0,25	0,7	0,61	0,63	0,58	2,16	0,34

¹ Gew., Gewicht; TKG, Tausendkorngewicht; Rep., Reproduzierbarkeit; Tol., Toleranz; Vergl., Vergleichsmessung; Wdh., Wiederholbarkeit

¹ Optomachines, 2 rue Wagner, 63200 RIOM, Frankreich

* Ansprechpartner: François PARADIS, fparadis@optomachines.fr

Wartung von Opto Agri ist einfach und Software Updates oder zusätzliche Programme können einfach via Internet hochgeladen werden.

Kornbiometrie und Glasigkeit mit Opto Agrimetric

Bei der Messung werden ca. 600 Körner auf eine gerillte Platte gelegt. Diese patentierte Platte ermöglicht eine gute Trennung der Körner in einigen Sekunden. Die Platte wird in die Maschine eingeführt und von unten beleuchtet. Eine obenliegende Kamera nimmt die Bilder auf und in ca. zwei Minuten stehen folgende Ergebnisse zur Verfügung: (i) durchschnittliche Körnerbiometrie (Länge, Breite); (ii) Körnerklassifizierung (normale Körner, kleine Körner/Schmachtkörner, Bruchkörner); (iii) Bruchanteil; (iv) Anteil glasiger/mehligter Körner an den normalen Körnern; (v) Anteil gefleckter Körner und Verunreinigungen; (vi)

Optomachines: Saatgutanalyse mit Bildverarbeitungsmessgeräten
High-throughput phenotyping of seed characteristics through image analysis

Tausendkorngewicht (www.optomachines.fr/Files/optomachines_optoagrimetric_en.pdf).

Im Moment wird intensiv mit dem französischen Forschungsinstitut INRA an der Charakterisierung von Durum gearbeitet, weiters aber auch an Sorghum, Mais und Reis (www.optomachines.fr/Files/optomachines_optorice2_en.pdf).

Zusammenfassung

Die Pflanzenzüchter und die Saatgutforscher schätzen heutzutage Schnelligkeit, Genauigkeit und Ergonomie von zeitsparenden Messgeräten. Saatgutanalyse mit Bildverarbeitungsmessgeräten stellt eine logische Entwicklung dar um zeit- und kostenintensive Bestimmungen einfach und zuverlässig durchführen zu können. In der Zwischenzeit sind mehrere Geräte für unterschiedliche Fragestellungen verfügbar die eine hohe Reproduzierbarkeit der Messergebnisse erlauben.

Integrated seed testing by high resolution melting

Eduard Mader^{1*}

Abstract

In Austria and some other countries of the European Union the distribution of GMO seed is regulated or even banned by law. Therefore, GMO screenings are an inevitable instrument for companies propagating and trading seeds, especially in corn, soybean and rapeseed. The testing of a sample of seed for genetically modified elements can be combined with a test for an authentication of the cultivar. This is shown here by multiplexing assays based on real time PCR and high resolution melting (HRM) analysis. In several experiments, tests for the 35S promoter of the cauliflower mosaic virus were combined with an analysis of highly polymorphic SSR markers in maize. Thus, an integrated assay would provide a higher level of security for the certification of GMO free seeds.

Reference material of several GM-cultivars of maize (MON810, MON863, TC1507, NK603, Bt11 and Bt176) and one soybean cultivar (Roundup Ready®) were provided through the EU Joint Research Center (Gent, Belgium). GM-free seed of commercial maize hybrids was purchased in Austria. DNA was isolated from grinded seed by an adapted protocol based on magnetic beads with the Bio-Nobile QuickPick™ kit (BN Products & Services Oy Ab, Pargas, Finland). PCR and HRM reactions were performed on a Rotor-Gene Q (Qiagen, Hilden, Germany) thermocycler by the use of HOTFire-Pol® (Solis BioDyne, Tartu, Estonia) HRM mastermix. High resolution melting profiles were interpreted using Rotor-Gene Q Pure Detection software (Version 2.0.2). Several combinations of primers for the GM element (CaMV-35S) and microsatellite markers (umc1329, umc1569, umc1017) were selected regarding their suitability for PCR multiplexing and a maximal difference of T_m values of the amplicons. The amplicon of the 35S promoter was detected by interpretation of the complex melting profiles, setting the temperature normalisation region between 78 and 79°C (lower) and 84 and 85°C (upper). The presence of the GM element could be clearly

detected in all transgenic reference samples (maize and soybean). All of the selected microsatellite markers amplified products with a higher T_m value than the GM element. Hence the normalisation regions for the evaluation of these amplicons were set between 84 and 94°C. All the reference samples of maize (GMOs and GM-free cultivars) showed clear and distinct melting domains in this region, whereas the soybean sample obviously yielded a small amount of unspecific PCR product indicated by an erratic melting profile. The melting profiles of the eight maize cultivars at the SSR umc1329 could be clearly clustered into four groups, representing four different genotypes at this microsatellite marker.

In a second step of the experiment, mixed samples of transgenic and GM free maize seed flour at different admixture levels were analysed in the same manner. Due to the formation of heteroduplexes, a contamination of GM-free maize with only 0.2% of GM-maize of a different genotype could be detected by the melting profile of the microsatellite marker. This clearly shows that PCR/HRM is a valuable tool for GMO screenings and seed authentication in integrated assays.

Acknowledgments

This work was supported by fundings of the FFG-Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft.

References

- BROEDERS S, DE KEERSMAECKER S, ROOSENS N, 2012: How to deal with the upcoming challenges in GMO detection in food and feed. *J Biomed Biotechnol* 2012: ID402418. DOI: 10.1155/2012/402418
- MADER E, RUZICKA J, SCHMIDERER C, NOVAK J, 2011: Quantitative high-resolution melting analysis for detecting adulterations. *Anal Biochem* 409: 153-155. DOI: 10.1016/j.ab.2010.10.009
- WAIBLINGER HU, ERNST B, ANDERSON A, PIETSCH K, 2008: Validation and collaborative study of a P35S and T-nos duplex real-time PCR screening method to detect genetically modified organisms in food products. *Eur Food Res Technol* 226: 1221-1228. DOI: 10.1007/s00217-007-0748-z

¹ Ingenieurbüro Dr. Eduard Mader - molexe, Eichenweg 40, 4894 OBERHOFEN, Austria

* Corresponding author: Eduard MADER, em@molexe.com



Schweizerische Saatgutproduktion im Überblick - Professionalisierung in der Produktionskette

A survey of the seed production in Switzerland - Professionalizing the production chain

Thomas Hebeisen^{1*}, Manuela Schläpfer¹

Abstract

Switzerland's seed production is an important prerequisite to guarantee self-sufficiency. During the last ten years, the amount of seed sold in Switzerland stayed stable within the range of 25000 tons, although simultaneously cultivable acreage declined. This development was driven by Swiss farmers knowing about the importance of high quality, certified seed and well adapted varieties to gain high yields. Swiss seed producers take considerable efforts to ensure supply with a high percentage of home produced certified seed.

In 2014, as much as 1201 individual seed producers, organized within nine national seed propagation units, acted under the umbrella organization 'swissem'. This organization guarantees that common interests of seed producers are represented, needs and trends can be foreseen, and measures can be focused. Thereby the percentage of seed lots which fulfilled the high Swiss quality standards increased steadily during the last years. Also, the amount of organically produced seed increased in the last five years by 30%.

These trends were significantly aided by means of seed quality testing in the laboratories of Agroscope, including the analysis of purity and germination capacity and, in case of organic seed, the detection and control of seedborne pathogens like common bunt or snowmould. Despite many changes in agricultural policies during the last two decades, the close collaboration and concerted action of farmers, seed producers, breeders, government and researchers resulted in a remarkable professionalization of Swiss seed production.

Keywords

Certified seed, genetic improvement, organic seed, seed health, seed sales

Einleitung

Die agrarpolitischen Rahmenbedingungen für die schweizerische Landwirtschaft haben sich in den letzten 25 Jahren markant verändert. So sind zum Beispiel staatlich gesicherte

Preis- und Absatzgarantien für landwirtschaftliche Erzeugnisse wegen hohen Überschüssen zu Beginn der 1990er Jahre vorerst durch branchenbezogene Leistungs- und Marktstützungsmaßnahmen abgelöst worden. Seit einigen Jahren werden unsere Landwirt/innen mit immer stärker leistungsbezogenen und produktionsungebundenen Direktzahlungen für ihre gemeinwirtschaftlichen Leistungen entschädigt. Indexiert auf das Basisjahr 1990 sind die Preise für landwirtschaftliche Güter um 27% gesunken, während in derselben Periode die Kosten für landwirtschaftliche Produktionsmittel um 15% und die Nahrungsmittelpreise um 18% zugenommen haben. Der Gesamtproduktionswert der schweizerischen Landwirtschaft beträgt aktuell 10,2 Mrd. CHF. Dies sind gerade noch 0,7% des Bruttoinlandproduktes. Die Konsumentenschaft gibt noch 7,2% ihres Bruttoeinkommens für die Nahrungsmittelversorgung aus. Gemäß den Auswertungen des schweizerischen Bauernverbandes (SBV) verbleiben von einem Franken gerade noch 25 Rappen in der Landwirtschaft. Hohe Infrastruktur- und Lohnkosten werden als Grund für die Vergrößerung der Marktspanne genannt. Aus landwirtschaftlicher Sicht sind die multifunktionalen ökologischen Leistungen der Landwirtschaft, wie sie aus gesellschaftlicher Betrachtung in unserer Bundesverfassung verankert sind, eher überbewertet. Der eigentliche Grundauftrag, die Nahrungsmittelversorgung für eine wachsende Bevölkerung sicherzustellen, sei viel zu wenig bedeutend. Die Bundesausgaben für die Landwirtschaft und den Ernährungssektor betragen jährlich 3,7 Mrd. CHF, davon sind 2,8 Mrd. CHF leistungsabhängige Direktzahlungen. Der kalorienmäßige Netto-Selbstversorgungsgrad der Schweiz beträgt 55,2%. Die Schweiz gehört damit zu den größten Importeuren von landwirtschaftlichen Erzeugnissen. Als Konsequenz der veränderten Rahmenbedingungen halbierte sich die Anzahl der Landwirtschaftsbetriebe auf 55207, wovon aktuell 10% nach den Richtlinien des biologischen Landbaus geführt werden. In der Landwirtschaft sind nur noch 158919 Personen beschäftigt. Dem hohen Kostendruck konnte nur mit verbesserter Betriebs- und Arbeitsorganisation sowie zunehmenden Nebenerwerbsanteilen am Einkommen entgegen gewirkt werden. Hoher Siedlungs- und Infrastrukturbedarf bewirken seit Jahren einen stetig hohen Kulturlandverlust (9,5 ha/Tag). Die politischen Maßnahmen konnten diesen

¹ Agroscope, Institut für Pflanzenbauwissenschaften, Reckenholzstrasse 191, 8046 ZÜRICH, Schweiz

* Ansprechpartner: Thomas HEBEISEN, thomas.hebeisen@agroscope.admin.ch

bis heute nicht verringern. Kaufpreise und Pachtzinse für Kulturland sind dementsprechend teuer. Innerhalb der landwirtschaftlichen Nutzfläche (1,05 Mio ha) ist der Flächenanteil der Kunstwiesen kontinuierlich angestiegen, während vor allem die Futtergetreideproduktion drastisch abgenommen hat. Ein höherer Selbstversorgungsgrad bei den tierischen Produkten wird in den letzten Jahren mit zunehmenden Importmengen an kostengünstigerem Futtergetreide realisiert.

Saat- und Pflanzgut als Teil der Vorleistungen der Landwirtschaft

Für ihre Produktion beziehen die Landwirte jährlich Vorleistungen von 6,226 Mrd. CHF. Futtermittelzukäufe sind am bedeutendsten. Innerhalb dieser Ausgaben werden für die Beschaffung von Saat- und Pflanzgut knapp 300 Mio. CHF aufgewendet. Sie sind vergleichsweise größer als diejenigen für Pflanzenschutzmittel sowie für Dünge- und Bodenverbesserungsmittel. Die schweizerischen Saat- und Pflanzgutproduzenten setzten sich seit jeher zum Ziel, unsere Landwirtschaft mit einem hohen Inlandanteil an zertifizierten Saat- und Pflanzgut von gut an unsere Produktionsbedingungen und Qualitätsanforderungen angepassten Sorten zu versorgen. Die sorgfältige Abschätzung des Marktbedarfs wird immer bedeutender, da die Mittel für die Verwertung von Überschüssen auch in der Saat- und Pflanzgutproduktion nicht mehr von staatlicher Seite zur Verfügung stehen. Zu hohe Produktionskosten verhindern den Saatgutexport. Folgende Fragen stellen sich:

- Wie wirkte sich der stetig zunehmende Kostendruck auf den Verkauf von zertifiziertem Getreidesaatgut aus?
- Wie haben die Vermehrungsorganisationen ihre Produktionsflächen angepasst?
- Wie entwickelten sich die Anerkennungsquoten bei der Feldbesichtigung und nach den Saatgutqualitätsuntersuchungen?
- Wie konnte die Arbeitsteilung zwischen den Akteuren in der Saatgutproduktion optimiert werden?
- Welches sind die zukünftigen Herausforderungen aller Akteure?

Material und Methoden

Für die Auswertungen sind Datenerhebungen aus der Feldbesichtigung verschiedener Getreidearten sowie Ergebnisse aus den Saatgutqualitätsanalysen der offiziellen Saatgut-zertifizierung benutzt worden. Die Verkaufszahlen sind der Zertifizierungsstelle durch die Vermehrungsorganisationen gemeldet worden.

Ergebnisse und Diskussion

Verantwortlichkeiten in der Saat- und Pflanzgut-zertifizierung

Die saatgutrechtliche Umsetzung ist in der Saat- und Pflanzgutverordnung des Departements für Wirtschaft, Bildung und Forschung (WBF) unter der Verantwortung

des Bundesamtes für Landwirtschaft (BLW) festgelegt. Die Umsetzung ist an die beiden Zertifizierungsstellen der Forschungsanstalt Agroscope übertragen worden, welche auch sämtliche Qualitätsanalysen durchführen. Für die saatgutrechtliche Weiterentwicklung ist der Dienst für Saat- und Pflanzgut fachlich verantwortlich. Er setzt sich aus Vertretern von BLW und Agroscope zusammen. Für die Abwicklung der Saat- und Pflanzgut-zertifizierung betreiben swissem und Agroscope seit 2009 eine gemeinsame auf Oracle-basierte Datenbank CertiPRO, die sie zu gleichen Teilen finanzieren. Im Agrarabkommen mit der EU ist die gegenseitige Anerkennung im Saat- und Pflanzgutbereich sichergestellt. Weitere Details zur Zertifizierung von anderen Pflanzenarten, zur Abwicklung der Sortenprüfung sowie zu Markt und Handel sind in der Publikation „Sorten, Saat- und Pflanzgut in der Schweiz“ (BLW 2009) ersichtlich.

Produktionsstrukturen in der Saat- und Pflanzgutproduktion

Im Jahr 2014 vermehrten neun überregionale Vermehrungsorganisationen mit 1201 Produzent/innen Saat- und Pflanzgut. Sie sind alle Einzelmitglieder im Dachverband „swissem“, der ihre Interessen gegenüber den Behörden und den Branchenverbänden vertritt. Die Geschäftsführung wird durch die Koordinationsgruppe Saatgut übernommen. Diese wird von den Geschäftsführern der größeren Vermehrungsorganisationen gebildet. Swissem unterhält für die fachliche Unterstützung in der Mengenplanung und Preisfestlegung mehrere Arbeitsgruppen. Der Agrarhandel ist teilweise an den Vermehrungsorganisationen mitbeteiligt.

Die Vermehrungsorganisationen schließen mit ihren Vermehrern Produktionsverträge mit Absatz- und Preisgarantie ab. Sie sind auch für die elektronische Erfassung aller produktionsrelevanten Daten in der Datenbank CertiPRO verantwortlich. Die Verantwortlichen der Zertifizierungsstellen werden durch private FeldbesichtigungsexpertenInnen unterstützt. Deren Aus- und Weiterbildung wird durch die Verantwortlichen der Zertifizierungsstellen sichergestellt.

Vorstufen- sowie Basissaatgut von inländisch gezüchteten Sorten werden von der DSP AG in Delley (staatliche Züchtungsprogramme Agroscope) sowie der SATIVA Rheinau AG (Züchtungsprogramme Peter Kunz) produziert. Diese Vermehrungen werden von den Verantwortlichen der Zertifizierungsstellen feldbesichtigt.

Entwicklung der Saatgutverkäufe verschiedener Getreidearten

Ein Vergleich der Getreidesaatgutverkäufe von 2003 bis 2013 zeigte, dass die jährlichen Saatgutverkäufe geringfügig um 25000 Tonnen schwanken. Dies ist bemerkenswert, weil in derselben Zeitperiode die Anbauflächen für Brotgetreide leicht und vor allem für Futtergetreide stark abgenommen haben (*Abbildung 1*). Trotz hohem Kostendruck sind die Landwirte offensichtlich bereit, das Saatgut jährlich zu erneuern. Die Vorteile von zertifiziertem Saatgut wie Sortenecht- und -reinheit, hohe Keimfähigkeit, kein oder nur ein geringer Besatz mit Samen von unerwünschten Arten sowie Rückverfolgbarkeit werden in der Praxis geschätzt.

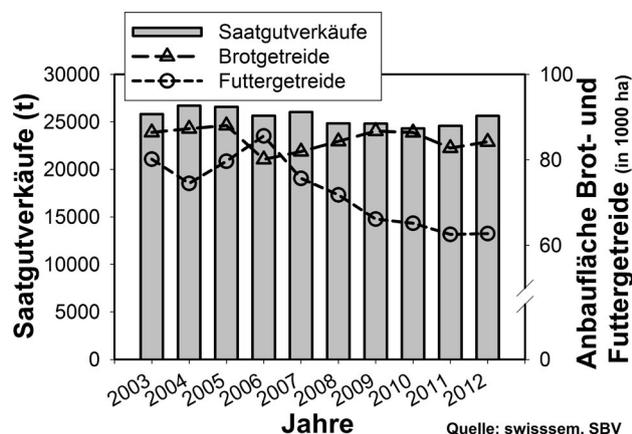


Abbildung 1: Entwicklung der Getreidesaatgutverkäufe (t) in der Schweiz von 2003 bis 2012 im Vergleich zur Flächenentwicklung von Brot- und Futtergetreide (in 1000 ha)

Figure 1: Development of cereal seed sales (t) in Switzerland from 2003 to 2012 in comparison with the development of the production surfaces of bread and forage cereals (in 1000 ha)

In den Labelprogrammen ist die Aussaat von zertifiziertem Saatgut Grundvoraussetzung. Die langjährig durchgeführten Werbekampagnen für das inländische Saatgut- und Pflanzgut mit dem Herkunftslabel „Z-Saatgut Suisse“ sowie die zahlreichen Teilnahmen an Feldtagen und anderen Veranstaltungen wirkten sich positiv aus. Der in in- und ausländischen Züchtungsprogrammen erzielte Fortschritt kann von der Praxis somit rasch genutzt werden. Die aus Sicht der Verarbeitungsbetriebe immer bedeutendere Rückverfolgbarkeit vom Rohstoff bis zum Endprodukt kann sichergestellt werden. Für die Versorgungssicherheit mit Futter- und Nahrungsmitteln ist die inländische Saat- und Pflanzgutproduktion fundamental. Daher sind die mittelfristigen Absatzchancen für zertifiziertes Saat- und Pflanzgut intakt.

Entwicklung der Feldanerkennungsflächen der verschiedenen Getreidearten

Die feldbesichtigt anerkannten Flächen der verschiedenen Getreidearten nahmen von 2003 bis 2014 kontinuierlich ab und schwankten in den letzten Jahren um 6500 ha. Erfreulicherweise verbesserte sich die Anerkennungsquote der eingereichten Saatgutposten nach den Qualitätsuntersuchungen im Saatgutprüflabor (Abbildung 2). Die Saatgutqualität war in den Kampagnen 2013 und 2014 außerordentlich gut. Die Anzahl der Sorten, die vermehrt wurden, variierte zwischen 85 und 100 Sorten. Trotz kleinerer Vermehrungsfläche wurde die Sortenvielfalt beibehalten. Kundenwünsche werden meistens berücksichtigt. Gleichzeitig wird ein Beitrag für die gewünschte Sortenvielfalt in der landwirtschaftlichen Produktion sowie eine Verminderung der Produktionsrisiken in der Saatgutproduktion erzielt. Mit kleineren Vermehrungsflächen konnte die sortenspezifische Marktversorgung in den letzten Jahren sichergestellt werden. Die Vermehrungsorganisationen mussten als Konsequenz geringere Saatgutmengen zu niedrigeren Brot- und Futtergetreidepreisen verwerten. Zusätzlich haben die Vermehrungsor-

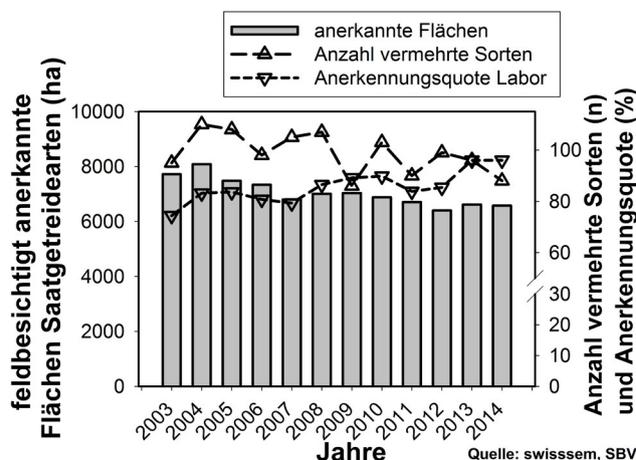


Abbildung 2: Entwicklung der Feldanerkennungsflächen verschiedener Getreidearten in der Schweiz von 2003 bis 2012 im Vergleich zur Anzahl der Sorten, die vermehrt wurden, sowie der Laboranerkennungsquote nach den Saatgutqualitätsuntersuchungen (%)

Figure 2: Development of successfully field inspected production areas of cereal crops in Switzerland from 2003 to 2012 in comparison with the number of varieties which were multiplied and the percentage of lots which fulfilled seed quality requirements (%)

ganisationen ihre Saatgutaufbereitungsstellen drastisch von 24 auf 14 vermindert. Mit höheren Anlieferungen können die Installationen saisonal besser ausgelastet werden. Es resultieren niedrigere Aufbereitungskosten. Gleichzeitig nehmen auch die Erfahrungen in der Saatgutaufbereitung zu, so dass die Professionalität insgesamt zunimmt. Grundvoraussetzung sind ebenfalls stabil hohe Anerkennungsquoten in der Feldbesichtigung. In günstigen Jahren können mehr als 95% der für die Feldbesichtigung angemeldeten Flächen bei den verschiedenen Arten auch feldbesichtigt anerkannt werden (Daten nicht gezeigt). Eine professionellere Anlage und Pflege der Vermehrungen, eine vermischungsfreie Ernte sowie eine sorgfältige Aufbereitung bewirkten eine höhere Anerkennungsquote. Aufgrund von sinkenden Saatgutpreisen waren diese Kosteneinsparungen notwendig, um dem Margendruck entlang der Vermarktungskette besser entgegenwirken zu können.

Ausdehnung der Produktion von Biosaatgut

Die Produktion von Biosaatgut ist in den letzten fünf Jahren um 30% auf fast 700 ha ausgedehnt worden. Mit 500 ha ist das Getreidesaatgut am bedeutendsten. Biogetreidesaatgut erreicht einen Marktanteil von 5,1% des gesamten Saatgutverkaufs. Die von unserer Samenpathologie durchgeführten Gesundheitsuntersuchungen auf Besatz mit samenbürtigen Erregern zeigten beispielsweise bei Winterweizenbioposten (n=60-90 Muster pro Kampagne), dass in den meisten Kampagnen deutlich weniger als 10% der Posten einen zu hohen Besatz mit Stink- und Zwergbrandsporen für eine unbehandelte Aussaat aufweisen. Dennoch sind Gesundheitsuntersuchungen als Präventivmaßnahme für die Biosaatgutproduktion sehr bedeutend, da vor allem beim Dinkelsaatgut wegen dem Anbau in höheren Lagen mit

längerer Schneebedeckung hoher Stinkbrandsporenbesatz auftreten kann (BÄNZIGER et al. 2012). Mit der Zulassung von Cerall® (Antagonist *Pseudomonas chloraphis*) und seiner Eintragung auf der Hilfsstoffliste des Biolandbaus steht der Praxis eine wirksame Behandlung zur Verfügung. In Jahren mit hohen Sommerniederschlägen wie z. B. 2012 kann die Keimfähigkeit des unbehandelten Biosaatguts wegen Schneeschimmelbesatz zu niedrig sein. Im mehrjährigen Durchschnitt verbessert eine Cerall®-Behandlung mit seiner Teilwirkung gegenüber Schneeschimmel den Anteil an normal entwickelten Keimlingen bei Weizen und Triticale um 10%, so dass die geforderte Mindestkeimfähigkeit von 85% meistens erreicht werden kann. Bei Bioroggen sind die Effekte leider nicht bei allen Posten immer so groß, da zusätzlich noch mechanische Keimlingsbeschädigungen auftreten (Daten nicht gezeitigt).

Wissenssicherung im Saatgutprüflabor

Die Personalbudgets der Agroscope Forschungsanstalten sind in den letzten Jahren insgesamt reduziert worden. Dies widerspiegelt die abnehmende volkswirtschaftliche Bedeutung des Landwirtschaftssektors. Demgegenüber nehmen die gesellschaftlichen und umweltpolitischen Anforderungen an die landwirtschaftliche Produktion zu. Es ist klar, dass für die Bearbeitung von komplexeren Fragestellungen wie z. B. beim Ressourcenschutz zusätzlicher Forschungsbedarf auslöst werden muss. Die Weiterführung von Vollzugsaufgaben wie die Saatgutertifizierung und auch die Saatgutqualitätsprüfung werden bei solchen Reorganisationen in Frage gestellt. Die Verfügbarkeit von Drittmitteln aus den Saatgutuntersuchungen für in- und ausländische Kunden ermöglichte uns in den letzten Jahren die Wissenssicherung zu verbessern, indem junge Saatgutprüfer/innen vor der Pensionierung von erfahrenen Mitarbeiter/innen angestellt und ausgebildet werden konnten. Mit gezielten Weiterbildungen in ausländischen Labors und in ISTA-Kursen erweitern wir die Fachkompetenz der Mitarbeitenden. Das Saatgutprüflabor von Agroscope ist seit 2000 ISTA akkreditiert. Die ISTA-Akkreditierung bewirkt eine stetige Weiterentwicklung der Arbeitsorganisation und eine strikte Qualitätssicherung in der Arbeitserledigung, die gut dokumentiert werden muss. Wir verzeichnen in den letzten beiden Jahren eine Zunahme der Analyseaufträge, für die eine Ausstellung eines ISTA-Zertifikats verlangt wird. Mit Optimierungen in der Administration sowie dem Einsatz eines neuen Beizgeräts und eines Robotergeräts für das Auslegen der Getreidekörner auf dem Filterpapier konnten Effizienzsteigerungen erzielt und Personaleinsparungen teilweise kompensiert werden.

Zukünftigen Herausforderungen

- Die Bedeutung der inländischen Saat- und Pflanzgutproduktion für die Versorgungssicherheit der landwirtschaftlichen Produktion ist auf agrarpolitischer Ebene aufzuzeigen.
- Die Saat- und Pflanzgutproduktion muss aus der Sicht der Produzentenschaft wirtschaftlich attraktiv bleiben. Bisherige Flächenbeiträge für die Saatgutproduktion von Futterpflanzenarten, Körnerleguminosen, Saatmais und Pflanzkartoffeln sollten nicht gekürzt werden. Solide Pflegeaufwandabschätzungen sind für die politische Argumentation zu erarbeiten.
- Die Vorteile von zertifizierten Saat- und Pflanzgut sind wie bisher mit wirksamer Werbung aufzuzeigen. Die Keimfähigkeit von überlagertem Saatgut wird zur Qualitätssicherung überprüft.
- Entwicklung des Flugbrandnachweis mit PCR-Methodik und Praxiseinführung der Warmwasserbeizung zur Verminderung des Flugbrandbefalls von Biogerstensaatgut.
- Professionelle Zusammenarbeit der Vermehrungsorganisationen von der Planung bis zur Vermarktung verstärken; Betrachtung der Vollzugsaufgaben immer mehr als Qualitätssicherung.
- Die Wirtschaftlichkeit der inländischen Futtergetreide und Körnerleguminosenproduktion muss mit neu auszurichtenden Flächenbeiträgen verbessert werden.
- Das im Jahr 2014 erstmals produzierte Gebrauchssaatgut von Hybridgerste konnte wie erhofft vermarktet werden. Es sind weitere Erfahrungen im Anbau zu sammeln.
- Schaffen von Freiraum für Forschungsprojekte wie zum Beispiel die Einführung der Thermoseedbehandlung als Alternative zur chemisch synthetischen Saatgutbeizung.

Danksagung

Für die Unterstützung bei der Datenerfassung im Rahmen der Saat- und Pflanzgutertifizierung bedanke ich mich bei den Verantwortlichen der Vermehrungsorganisationen und von swisssem.

Literatur

- BLW, 2009: Sorten, Saat- und Pflanzgut in der Schweiz. Bundesamt für Landwirtschaft (BLW), Schweizerische Eidgenossenschaft, Bern. [http://www.blw.admin.ch/themen/00011/00077/index.html?lang=de&download=NHZLpZeg7t,lnp610NTU04212Z6ln1acy4Zn4Z2qZpnO2Yqu2Z6gpJCDffF8gmym162epYbg2c_JjKbNoKSn6A--; accessed 16 Jan 2015].
- BÄNZIGER I, ZANETTI S, HEBEISEN T, GRAFF L, VOGELGSANG S, 2012: 15 Jahre Gesundheitsuntersuchungen von Bio-Getreidesaatgut bei Agroscope ART. Agrarforschung Schweiz 3 (1): 12-19.

Predbreed - Knowledge-based breeding of bio-energy cereals

Dominik Losert^{1*}, Tobias Würschum¹, Arno Ruckelshausen², Hans Peter Maurer¹

Abstract

The rapidly growing human population and the constantly rising demand for renewable resources are challenging plant breeders to increase the sustainable agricultural production by knowledge-based breeding methods. Until now, a major limitation in plant breeding was the collection of phenotypic information from field experiments in a cheap, fast, and objective way. To overcome this limitation a precision phenotyping platform has been developed and successfully applied in a previous study to evaluate biomass yield of triticale with a high precision at different development stages. So far the use of the developed precision phenotyping platform was limited to a defined single plot design with six rows and particular plot geometry, thus limiting the use of the precision phenotyping platform.

The current joint research project *Predbreed* between the universities of Osnabrueck and Hohenheim has the objectives to (1) develop a carrier vehicle and a precision phenotyping platform that is flexible for any plot design used in plant breeding experiments, (2) establish calibration models with the precision phenotyping platform

for biomass yield of wheat, triticale, and rye, (3) apply the precision phenotyping platform to predict biomass yield of 1300 triticale genotypes, (4) genotype these varieties with genome-wide markers for QTL mapping and genomic prediction, and (5) use the extensive data for predictive breeding.

The newly developed precision phenotyping platform comprises several sensors (light curtain, 3D time-of-flight cameras, laser distance sensors, hyperspectral imaging). It obtains phenotypic data non-invasively and, therefore, enables to measure the traits of interest dynamically during different developmental stages. Experiments to establish calibration models for biomass yield of the three crops wheat, triticale and rye are grown at two locations over a three-year-period. Each calibration experiment consists of 25 registered varieties. The prediction experiment is carried out in Southern-Germany at five locations in 2014, and at six locations in 2015. In total 8800 plots have been phenotyped in 2014 and 19600 plots will be phenotyped in 2015. These phenotypic data will subsequently be analysed and used for the genomics approaches.

Acknowledgments

This research was funded by the German Federal Ministry of Food and Agriculture (BMEL) under the promotional reference 22406112. We acknowledge the handling of the funding by the Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V. (FNR). We thank the Gesellschaft für Pflanzenzüchtung (GFP) for support of this project.

References

- BUSEMEYER L, KLOSE R, LINZ A, THIEL M, WUNDER E, TILÉNAC M, RUCKELSHAUSEN A, 2010: Agro-sensor systems for outdoor plant phenotyping platforms in low and high density crop field plots. Proc 68th Int Conf Agric Eng, *Land-Technik 2010 - Partnerschaften für neue Innovationspotentiale*, 27-28 Oct, Braunschweig, VDI Berichte 2111: 213-218. Verein Deutscher Ingenieure (VDI) Verlag, Düsseldorf.
- BUSEMEYER L, MENTRUP D, MÖLLER K, WUNDER E, ALHEIT K, HAHN V, MAURER HP, REIF JC, WÜRSCHUM T, MÜLLER J, RAHE F, RUCKELSHAUSEN A, 2013: BreedVision - A multi-sensor platform for non-destructive field-based phenotyping in plant breeding. *Sensors* 13: 2830-2847. DOI: 10.3390/s130302830.

¹ University of Hohenheim, State Plant Breeding Institute, Fruwirthstraße 21, 70599 STUTTGART, Deutschland

² Competence Centre of Applied Agricultural Engineering COALA, University of Applied Sciences Osnabrück, 49076 OSNABRÜCK, Deutschland

* Dominik LOSERT, d.losert@uni-hohenheim.de



Erfassung von Schnittterminen im Wirtschaftsgrünland auf Grundlage von Oberflächenänderungen im Radarbildvergleich

Using radar backscatter changes for the detection of cutting dates in grasslands

Kerstin Grant^{1*}, Melanie Wagner², Robert Siegmund², Stephan Hartmann¹

Abstract

Cutting date and frequency are important parameters determining grassland yields besides weather, soil conditions, and plant composition. Currently, there is no time or cost-efficient way to register cutting dates or numbers for large areas. Using satellite-based data could offer a regional wide coverage of grasslands. The European earth observation program Copernicus offers free and open data for public services from their new set of satellites called Sentinels. The radar images received with Sentinel-1 will cover whole Europe with a revisit time of six days and could be used to detect earth surface changes. Therefore, this study tests how radar images could be used to detect cutting dates in grasslands. For determining grassland cutting robust amplitude change

detection techniques were used evaluating the amplitude or backscatter statistics before and after the cutting event. All detected cuts were verified according to *in situ* measurements and recorded in a GIS database. The cutting frequency of a large area gained by this method is essential for optimizing the use of grasslands.

The combination of this method with a grassland yield model will result in more reliable and regional-wide numbers of grassland yields and for yield adjusted fertilization. From the detected cutting frequency estimations of seed demand for reseeded can also be derived.

Keywords

Area-wide estimation, cutting number, remote sensing, Sentinel-1, yield

Einleitung

Als eines der größten Ökosystemen der Welt steuert Grünland laut der FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations) zu der Existenzgrundlage von mehr als 800 Millionen Menschen bei (PANUNZI 2008). Trotz dieser Bedeutung gibt es keine genauen und flächendeckenden Zahlen zu Grünlanderträgen. Im Grünland sind neben Witterung und Bestandsinformationen (Artzusammensetzung, Bodentyp) Schnitthäufigkeit und Schnitttermine wichtige ertragsbestimmende Faktoren. Jedoch fehlen momentan flächendeckende und personaleffiziente Erfassungsmethoden für Schnitte im Grünland. Die Kenntnis von Schnittterminen ist nicht nur für die Ableitung von Ertragszahlen, sondern auch für naturschutzfachliche Aspekte, wie den Erhalt von bestimmten Pflanzenarten und Artenzusammensetzungen, interessant (HERBEN & HUBER-SANNWALD 2002). Daher besteht die Notwendigkeit eine geeignete Erfassungsmethode für Schnitttermine zu finden.

Für flächendeckende Beobachtungen sind Fernerkundungsdaten nützlich. In den nächsten Jahren werden durch das europäische Erdbeobachtungsprogramm Copernicus und dessen neuentwickelte Satelliten, den sogenannten Sentinels, Fernerkundungsdaten auch für öffentliche Dienste

kostenfrei und flächendeckend verfügbar (DLR 2014). Der erste für Copernicus entwickelte Satellit Sentinel-1A wird alle 12 Tage von jeder Stelle in Europa eine Radaraufnahme machen, durch einen baugleichen zweiten Satelliten (Sentinel-1B, geplanter Start 2016) wird künftig eine Abdeckung alle sechs Tage erreicht werden (ESA 2014). Ziel dieser Pilotstudie ist es zu testen, wie solche flächendeckend zur Verfügung stehenden Radarbilder für Fragestellungen in der Landwirtschaft verwendet werden könnten. Der Fokus dieser Arbeit liegt auf der Ermittlung von Schnittterminen. Durch Schnitte ändern sich Höhe und Form des Grünlandbestandes, die wiederum Änderungen in den Reflexionssignalen von Radarwellen verursachen. Durch den Vergleich von Radarsignalen zwischen zwei terminlich aufeinanderfolgenden Radaraufnahmen könnten so Schnitte festgestellt und zeitlich eingeordnet werden.

Material und Methoden

Datengrundlage

Da Daten des Sentinel-1 noch nicht zur Verfügung standen, wurden für die Entwicklung der Methode zur Detektion von Schnittterminen im Grünland Radaraufnahmen des

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

² GAF AG, Arnulfstraße 199, 80634 MÜNCHEN, Deutschland

* Kerstin GRANT, kerstin.grant@lfl.bayern.de

COSMO-SkyMed Systems der Termine 3., 7. und 15. Oktober 2014 verwendet. Die COSMO-SkyMed Daten sind HH polarisierte X-Band SAR Bilddaten und liegen in Form von Single Look Complex (SLC) Daten vor. Aufgenommen wurden die Radarszenen im HImage Modus. Die SLC Daten sind komplexwertige Datenmatrizen in Schrägsicht (*slant range*) Geometrie, deren Werte die Intensität und Phase der Radarrückstreuung enthalten.

Bildverarbeitung

Die Radartechnik bedient sich unter anderem der Eigenschaft aus der Reflexionsstärke von ausgesandten elektromagnetischen Wellen Informationen abzuleiten. Unterschiede in der Form, Rauigkeit oder im Wassergehalt von Oberflächen verändern die Stärke des rückgestrahlten Radarsignals (ALBERTZ 2001). Die Radarbilder wurden zunächst georeferenziert. Dazu wurde eine Orthokorrektur mit einem digitalen Geländemodell (*Range Doppler Terrain Correction*, SRTM) und eine Reprojektion in das Koordinatensystem 3-Grad Gauss-Krüger Zone 4 vorgenommen. Für die Datenanalyse sowie für die Vergleichbarkeit der Radaraufnahmen erfolgte eine absolute, radiometrische Kalibrierung. Die Amplitudenwerte wurden um die Effekte korrigiert, die durch das Aufnahmesystem bedingt sind. Die Amplitudenwerte der SAR (*Synthetic Aperture Radar*)-Daten selbst wurden von der *single look* Auflösung (ca. 2 m bis 2,8 m) in Schrägsicht auf 3 m *resampled*. Die Werte wurden schließlich in logarithmischer Skalierung in Dezibel angegeben. Danach erfolgte eine multitemporale Specklefilterung (*window size 5×5*) zur Verbesserung der allgemeinen Bildqualität und zur Erhöhung der Trennbarkeit. Diese Schritte wurden mit dem Softwarepaket ENVI SARscape® (Exelis Visual Information Solution, Boulder, USA) und ERDAS Imagine (Hexagon Geospatial, Norcross, USA) durchgeführt. Zur Visualisierung und Voruntersuchung in geeigneten GIS Umgebungen, z.B. GAFMap (GAF AG, München) oder ArcGIS (Esri, Redlands, USA), wurden die Daten als GeoTIFF (*unsigned 8bit*) exportiert und

zusammen mit einem Shapefile der im Gelände kartierten Grünlandflächen mit bekannten Schnittterminen analysiert. Die Grauwerte der Bilder geben die Radarsignalstärke wieder. Für jede Grünlandfläche wurden die Grauwerte aus den Rasterdaten extrahiert. Anhand dieser Werte wurden Mittelwerte der Grauwerte berechnet und Histogramme der Grauwertverteilung erstellt. Schnitte ergeben sich dadurch als Änderung in der mittleren Rückstreuintensität, also als Verschiebung der Grauwertverteilung.

Ergebnisse und Diskussion

Im Vergleich der Radaraufnahmen der drei Zeitpunkte im Oktober 2014 sind Veränderungen in der Radarsignal-Rückstreuintensität durch Oberflächenveränderungen in den Grünlandflächen ersichtlich (*Abbildung 1*). Visuell erkennt man eine Veränderung im Grauton, die auf den Schnitt des Grünlandes hinweisen.

Eine grobe Trennung der geschnittenen von den ungeschnittenen Flächen kann durch die Differenz der Grauwert-Mittelwerte pro Fläche erfolgen. Im Zeitraum zwischen

Tabelle 1: Grauwertvergleiche für Grünlandflächen im Untersuchungsgebiet (Schnittzeitpunkte siehe Legende *Abbildung 1*)

Table 1: Comparison of grey values of grassland plots (plot number, plot size (ha), mean grey value from radar images taken on 3rd, 7th and 15th October 2014, difference in means between imaging dates; dates of cuttings see legend of *Figure 1*)

Fläche	Größe (ha)	Mittelwert Grauwerte			Mittelwertdifferenz	
		03/10	07/10	15/10	03-07/10	07-15/10
1	5,3	89	134		-45	
3	9,2	113	129		-16	
13	2,1	125	139		-14	
2	5,9	97	96	132	-2	-36
4	8,2	109	109	131	±0	-22
5	2,8	115	112	122	+3	-10
7	1,2	140	136	139	+4	-3
8	2,2	116	118	118	-2	±0

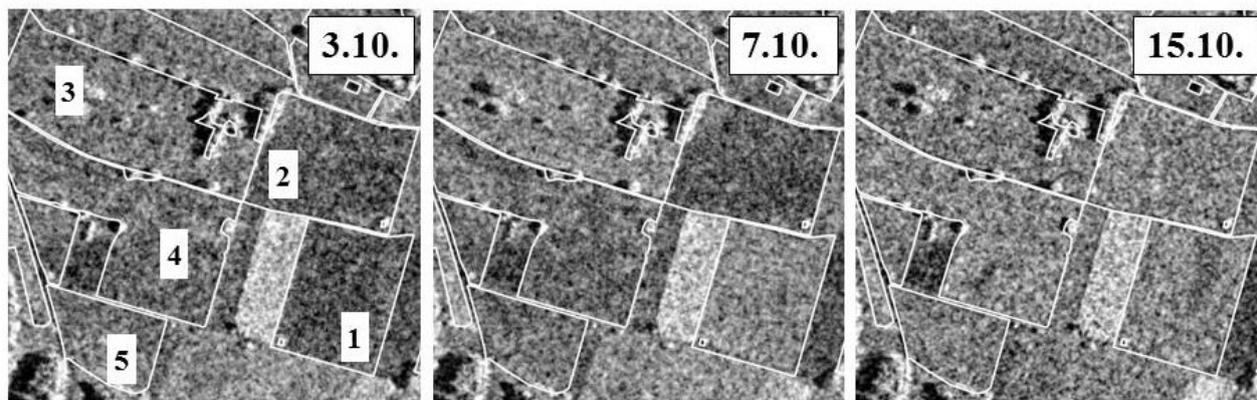


Abbildung 1: Veränderung der Radar-Rückstreuintensität (Grauwert) durch Oberflächenveränderung in Grünlandflächen im Testgebiet. Radaraufnahmen vom 3., 7. und 15. Oktober 2014 (v.l.n.r.). Im Gelände beobachteter Schnitt erfolgte auf den Flächen 1, 3 und 13 zwischen dem 3. und 7. Oktober, auf den Flächen 2, 4, 5, 7 und 8 zwischen dem 7. und 15. Oktober.

Figure 1: Alteration of radar backscatter signal (grey values) in radar images for grassland plots due to surface changes. Radar images from 3rd, 7th and 15th October 2014. Grassland cuts were carried out between 3rd and 7th October on plots 1, 3 and 13, and between 7th and 15th October on plots 2, 4, 5, 7 and 8 according to *in situ* measurements.

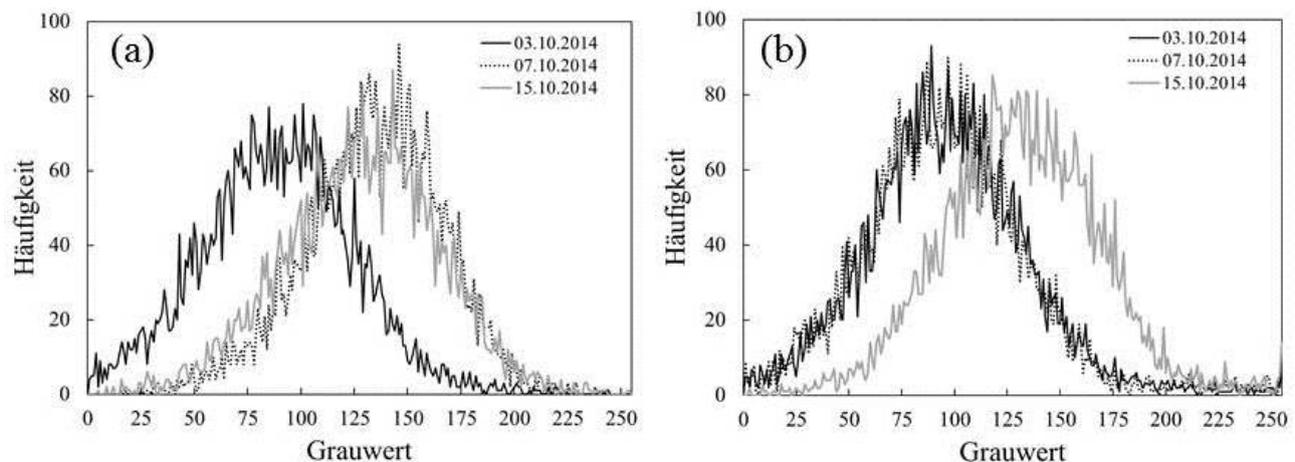


Abbildung 2: Verschiebung der Grauwertverteilung in den multitemporal gefilterten Radarbildern innerhalb der Grünlandflächen: (a) Fläche 1 durch Schnitt zwischen dem 3. und 7. Oktober und (b) Fläche 2 durch Schnitt zwischen dem 7. und 15. Oktober 2014.

Figure 2: Frequency shift of grey values in radar images due to cuttings on grassland plots: (a) grey value distribution for plot 1 with cut between 3rd and 7th October and (b) for plot 2 with cut between 7th and 15th.

zwei Radaraufnahmen wird dadurch die Änderung der Rückstreuintensität der einzelnen Flächen erkennbar (Tabelle 1). Nur ein Teil der betrachteten Flächen zeigten nur geringe (Fläche 5 und 7, Tabelle 1) oder keine Veränderung (Fläche 8) im Grauwertmittel im Vergleich der Aufnahmen vor und nach dem Schnitt.

Als weiteres Erkennungsmerkmal für eine Oberflächenveränderung in der Grünlandfläche dienen Histogramme. Abbildung 2 zeigt die jeweiligen Grauwertverteilungen der Flächen 1 und 2 aus dem Beispiel oben (Abbildung 1) für die jeweiligen Radarbilder. Es ist eine deutliche Verschiebung der Grauwertverteilungskurven zwischen den Terminen erkennbar.

Schlussfolgerung und Ausblick

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen, dass Grünlandschnitte durch den Vergleich zeitlich nahliegender Radarbilder erkennbar werden. Fast alle der untersuchten Flächen zeigten eine deutliche Veränderung der Rückstreuintensität in den Radaraufnahmen nach dem Schnitt. Da es für einige Flächen nur geringe bzw. keine Grauwertveränderungen gab, müssen weitere quantitative und statistische Untersuchungen folgen, um die Gründe für diese zu finden und den dadurch entstehenden Fehler der Schnittterminerfassung zu minimieren. In Folge kann dann eine geeignete Methode zur robusten und operationellen Detektion der Veränderungen bestimmt werden. Automatisch sollen dann Reihen von Radaraufnahmen auf Veränderungen in der Rückstreuintensität zum Vorgänger abgetastet und die Ergebnisse als Schnittzeitpunkte pro Fläche in Tabellenform ausgegeben werden. Die Übertragbarkeit der ermittelten Methoden auf Sentinel-1 Daten sowie die Integration von TerraSAR-X Daten werden in weiteren Schritten untersucht. Durch die flächendeckende und zeitlich enge Abdeckung mit Radarbildern wie mit den beiden Sentinel-1 Satelliten können Schnitte erfasst und auf Zeiträume von sechs Tagen eingegrenzt werden. Für eine zeitlich noch höhere Auflösung könnten Sentinel-1 Daten mit kommerziellen Radardaten kombiniert werden. Durch

die Kombination dieses Automatismus mit einem Ertragsmodell (z.B. HERRMANN et al. 2005), könnten künftig auch Grünlanderträge besser geschätzt werden. Aus der flächendeckenden Erfassung der Nutzungshäufigkeit und der Kenntnis regionaler geografischer und klimatischer Bedingungen ergibt sich außerdem das Potential für den Saatgutbedarf für Neu- oder Nachsaaten.

Danksagung

Dieses Projekt wird gefördert vom Bundesministerium für Wirtschaft und Energie im Rahmen von „GMES -Dienste für den öffentlichen Bedarf“ (FKZ 50EE1318). Unser Dank gilt besonders allen Landwirtinnen und Landwirten im Testgebiet, die uns unterstützt haben.

Literatur

- ALBERTZ J, 2001: Einführung in die Fernerkundung - Grundlagen der Interpretation von Luft- und Satellitenbildern. Wissenschaftliche Buchgesellschaft, Darmstadt.
- DLR, 2014: Copernicus in Deutschland - Sentinel-Daten für Deutschland. Deutsches Zentrum für Luft- und Raumfahrt e.V., Köln. [<http://www.d-copernicus.de/sentinel-daten-fuer-deutschland>; accessed 20 Nov 2014].
- ESA, 2014: Sentinel-1, Radar vision for Copernicus. European Space Agency, Paris, France. [http://esamultimedia.esa.int/docs/EarthObservation/Sentinel-1_sheet_140311.pdf; accessed 20 Nov 2014].
- HERBEN T, HUBER-SANNWALD E, 2002: Effect of management on species richness of grasslands, sward-scale processes lead to large-scale patterns. In: DURAND JL, EMILE JC, HUYGHE C, LEMAIRE G (Eds), Multi-function grasslands, Proceedings of the 19th General Meeting of the European Grassland Federation, 27-30 May, La Rochelle, France. Grassland Science in Europe 7: 635-643.
- HERMANN A, KELM M, KORNER A, TAUBE F, 2005: Performance of grassland under different cutting regimes as affected by sward composition, nitrogen input, soil conditions and weather - a simulation study. Eur J Agron 22, 141-158. DOI: 10.1016/j.eja.2004.02.002.
- PANUNZI E, 2008: Are grasslands under threat? Brief analysis of FAO statistical data on pasture and fodder crops. [http://www.fao.org/ag/agg/agpc/doc/grass_stats/grass-stats.htm; accessed 10 Sep 2014].



CORNET NoSprout - Methods for selecting falling number stability in winter wheat

Theresa Albrecht^{1*}, Volker Mohler¹, Ulrike Nickl¹, Günter Henkelmann², Lorenz Hartl¹

Abstract

Preharvest sprouting is the germination of mature kernels on the ear before harvest and can be induced by a hot and dry summer followed by rainy weather. During the germination process, starch degrading α -amylases are activated. As a consequence, baking quality and the market value of the harvested wheat is reduced. A first indicator of preharvest sprouting damage in wheat is a low Hagberg falling number (HFN) which can be measured directly after harvest. In the official Bavarian variety trials, HFNs are assessed yearly, but without sprouting damage, HFN stability of the different varieties cannot be evaluated each year. A standard procedure to evaluate HFN variation so far is a delayed harvest or artificial rain in the field, but these methods are time and resource consuming. In this study, the variation of HFN stability across varieties in the Bavarian official variety trials was assessed with a test based on after-ripening and wetting of kernels.

Threshed kernels of 29 winter wheat varieties harvested from eleven Bavarian locations were frozen up directly after harvest in 2013. For determining the optimal duration of after-ripening for each location, three varieties were chosen with known low to moderate HFN stability ('Hermann' = 'JB Asano' < 'Pamier'). For each location, three after-ripening periods of two, four, and five weeks were tested based on kernels of the reference varieties. After the period of after-ripening, kernels were wetted in petri dishes and stored for 24 hours at room temperature. Depending on the location, i.e. the deepness of dormancy, and the variety, kernels started to germinate and HFNs decreased. Locations differed according to the harvest date and the depletion of dormancy before harvest, which was influenced amongst others by the temperature sum reached since sowing. The complete set of varieties were analysed with the critical after-ripening period for each location, when the HFNs of 'Hermann' were substantially lower than those observed for 'Pamier'.

The stability of HFNs for each variety can be determined from the level reached under absence of sprouting condi-

tions and the amount of HFN decrease after provocation. Compared to HFN observed at harvest, the differentiation between varieties could be considerably increased with the developed test. The rating of HFN stability for wheat varieties based on the test presented in this study differed slightly from the official rating of the Bundessortenamt. But the overall ranking of varieties followed the impression from long-term field evaluations. However, the test described in this study needs to be re-evaluated over years to obtain a reliable method to assess falling number stability.

Acknowledgments

We thank the institutions of Bavarian official variety trials for providing materials. 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.

Das IGF-Vorhaben 75 EN/1 der Forschungsvereinigung Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. - GFP, Kaufmannstraße 71, 53115 Bonn wurde 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 gefördert.

References

- BUNDESSORTENAMT, 2013: Beschreibende Sortenliste. Bundessortenamt, Hannover.
- HAGBERG S, 1961: Note on a simplified rapid method for determining alpha-amylase activity. *Cereal Chem* 38: 202-203.
- MARES DJ, MRVA K, 2014: Wheat grain preharvest sprouting and late maturity alpha-amylase. *Planta* 240:1167-1178. DOI: 10.1007/s00425-014-2172-5
- SCHACHSCHNEIDER R, HEINZE M, 2009: Neue Methode zur Ermittlung der Fallzahlstabilität. *praxisnah - Fachinformation für die Landwirtschaft* 3 (Juni 2009): 6-7. [http://www.praxisnah.de/data/documents/praxisnah.de/2009-03/Praxisnah_3-09.pdf; accessed 19 Dec 2014]

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

² Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Abteilung Analytik der Rohstoffqualität pflanzlicher Produkte und Bioenergie

* Corresponding author: Theresa ALBRECHT, theresa.albrecht@lfl.bayern.de



Association mapping versus QTL analysis - Using plant genetic resources for discovery loci determining pre-harvest sprouting and dormancy in wheat and barley

Ulrike Lohwasser^{1*}, Mian Abdur Rehman Arif^{1,2}, Andreas Börner¹

Abstract

Pre-harvest sprouting (PHS) is a phenomenon of cereal crops when germination of grains occurs in the spikes before harvest and, therefore, it is a big problem in wheat and barley production. It reduces crop yield to the point of a total damage of the harvest. Due to climate change PHS can appear more often in future. Seed dormancy can prevent sprouting but can also delay the malting process in cultivated barley. Many factors and mechanisms affect PHS and dormancy. Searching for dormancy and sprouting genes can help to prevent these effects. As they are complex traits with high genetic variation, it can be assumed that both traits are controlled by multigenes or quantitative trait loci (QTL). Simultaneously, environmental effects especially during the ripening stage and storage conditions influence both traits making it difficult to evaluate under field conditions. Nevertheless, it is important to identify functional genes for cereal breeding. In the present study, four cereal populations, one biparental, the ITMI (*International Triticeae Mapping Initiative*) mapping population and one multiparental wheat population (183 genebank accessions of *Triticum aestivum* primarily selected for seed longevity) and two biparental barley populations (Oregon Wolfe Barley, Steptoe×Morex), were investigated in order to detect QTL and marker trait associations for PHS and dormancy and search for putative functions. All material was cultivated in Gatersleben, Germany, on experimental fields, in greenhouses, and/or in a foil tunnel in different years. Pre-harvest sprouting and dormancy tests were performed. The results were statistically analyzed. QTL

analysis was done with the program QGENE, marker trait associations were calculated with TASSEL using the general linear model and the mixed linear model. Results show major QTL and marker trait associations on chromosomes 3AL and 4AL for dormancy and PHS. On chromosome 3A the *viviparous1 (Vp1)* gene is located which is associated to pre-harvest sprouting and dormancy. On chromosome 4A a protein is detected which belongs to the aquaporin family. Aquaporins are responsible for water flow through the cell membrane. In barley interesting regions are on chromosomes 5H and 7H. One of the detected functions on 5H is an iron/ascorbate-dependent oxidoreductase which is known as a stress response gene. Another detected gene on 7H is the *nud* gene which is responsible for the naked or hulled character of the caryopsis. This could also influence PHS and dormancy. In conclusion, dormancy and pre-harvest sprouting are very complex traits. They are regulated by multigenes and/or many QTL. Further studies are necessary to identify responsible genes and markers for a marker-assisted selection.

Acknowledgments

The authors thank the German Academic Exchange Service (DAAD) for financial support of Mian Abdur Rehman Arif.

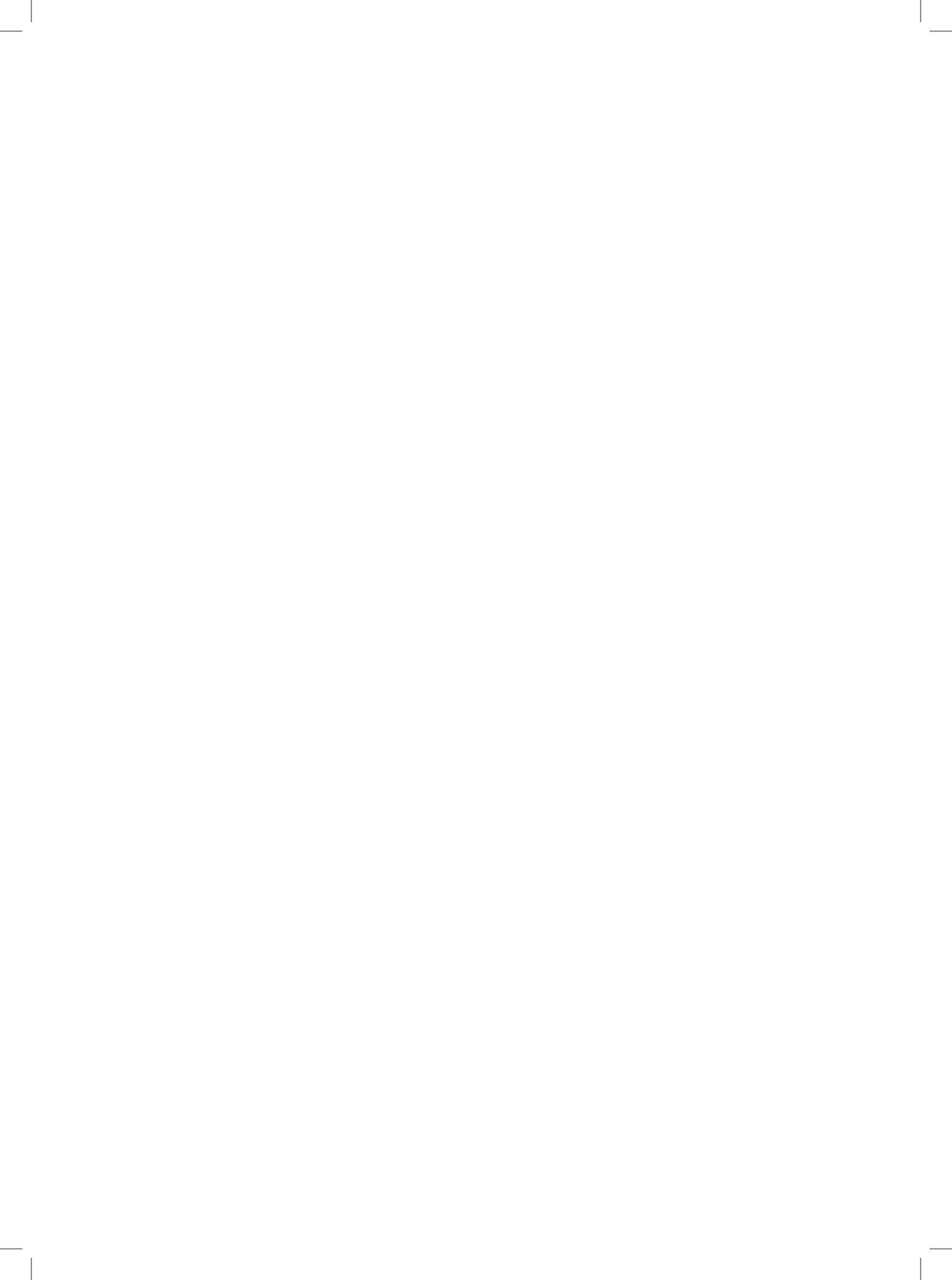
References

LOHWASSER U, REHMAN ARIF, MA, BÖRNER, A, 2013: Discovery of loci determining pre-harvest sprouting and dormancy in wheat and barley applying segregation and association mapping approaches. *Biol Plant* 57: 663-674. DOI:10.1007/s10535-013-0332-2

¹ Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben, Corrensstraße 3, 06466 STADT SEELAND, Deutschland

² Chinese Academy of Sciences, Institute of Genetics and Development Biology, 286 Huai Zhong Lu, 050021 SHIJIAZHUANG, HEBEI, China

* Ulrike LOHWASSER, lohwasser@ipk-gatersleben.de



Inventory and effects of causal genes for thousand grain weight in winter wheat

Volker Mohler^{1*}, Theresa Albrecht¹, Lorenz Hartl¹

Abstract

In cereals, grain size is a major contributor to high grain weight usually expressed as thousand grain weight (TGW) and can be described using its three dimensions length, width and thickness. Based on genes causal for these traits in rice, corresponding genes were isolated in wheat. We surveyed eight candidate genes, *i.e.* *TaSus1-7A*, *TaSus1-7B*, *TaSus2-2A*, *TaSus2-2B*, *TaGW2-6A*, *TaCKX6-D1*, *TaGS-D1*, and *TaGS1a*, in both a diverse genotype collection of 94 elite wheats and the bi-parental population Pamier/Format comprising 114 doubled haploid lines. In addition, *TaGW2-6B* was analysed in Pamier/Format population. Phenotypic data for the 94 wheat genotypes (TGW, grain width and length) and the segregating population (TGW and grain yield) were available for seven and six environments, respectively, each involving two cropping seasons. Using a genetic map built with SNP and SSR markers of Pamier/Format population, QTL analysis of TGW and grain yield was carried out as described elsewhere.

Frequencies of favoured haplotypes, *i.e.* alleles increasing TGW, estimated in the 94 wheat lines were as follows: 81.9% for Hap-1 and Hap-2 at *TaSus1-7A*, 91.5% for Hap-T at *TaSus1-7B*, 98.9% for Hap-A at *TaSus2-2A*, 0% for Hap-H at *TaSus2-2B*, 2.1% for Hap-6A-A at *TaGW2-6A*, 2.1% for *TaCKX6-D1a*, 4.3% for *TaGS-D1a*, and 2.1% for Hap-2 at *TaGS1a*. At *TaSus1-7A*, five haplotypes were identified. Hap-3 and Hap-5 were present each in only two entries, so these two haplotypes were not included in subsequent statistical analysis where a significant difference of 3.2 g in TGW between Hap-1 and Hap-4 was identified; no differences to Hap-1 and Hap-4 were observed for Hap-2. TGW difference was due to a significant difference in grain width (Hap-1: 3.44±0.08 mm; Hap-4: 3.36±0.06 mm). QTL analysis in Pamier/Format population revealed six QTL for TGW on chromosomes 1B, 2A, 2D, 4A, 4D, and 5D that were consistently found in all environments. *TaSus1-7A*, *TaGW2-6B*, and *TaGS-D1* were segregating in the progeny. Whereas the location

of *TaGW2-6B* coincided with the confidence interval of a TGW QTL that was exclusively found in one year, Hap-1 and Hap-2 alleles present at *TaSus1-7A* in ‘Format’ and ‘Pamier’, did not influence TGW. This was not unexpected since these two haplotypes were, generally speaking, found to be equivalent in both our and the initial study. However, a QTL for grain yield peaked in the interval confined by *TaSus1-7A*. *TaGS-D1* could not be grouped to other markers. A comparison of the two genotype classes did not show significant differences in TGW between *TaGS-D1b* (‘Pamier’) known to be inferior and a null allele (‘Format’) not reported before.

Our study showed that the alleles increasing TGW of the genes analysed are either almost fixed or not yet exploited in the breeding gene pool of West European winter wheats. The description of causal genes for TGW is still at the very beginning.

Acknowledgments

Excellent technical assistance from Petra Greim and the working group Wheat and Oat Breeding Research of the Bavarian State Research Center for Agriculture is highly appreciated.

References

- HOU J, JIANG Q, HAO C, WANG Y, ZHANG H, ZHANG X, 2014: Global selection on sucrose synthase haplotypes during a century of wheat breeding. *Plant Physiol* 164: 1918-1929. DOI: 10.1104/pp.113.232454
- MOHLER V, ALBRECHT T, MRVA K, SCHWEIZER G, HARTL L, 2014: Genetic analysis of falling number in three bi-parental common winter wheat populations. *Plant Breed* 133: 448-453. DOI: 10.1111/pbr.12177
- QIN L, HAO C, HOU J, WANG Y, LI T, WANG L, MA Z, ZHANG X, 2014: Homoeologous haplotypes, expression, genetic effects and geographic distribution of the wheat yield gene *TaGW2*. *BMC Plant Biol* 14: 107. DOI: 10.1186/1471-2229-14-107
- XING Y, ZHANG Q, 2010: Genetic and molecular bases of rice yield. *Annu Rev Plant Biol* 61: 421-442. DOI: 10.1146/annurev-arplant-042809-112209

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, 85350 FREISING, Deutschland

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



Kornertrag und Rohproteingehalt verschiedener Triticale-Sorten auf unterschiedlichen Standorten im humiden Klimagebiet 2010-2014 in biologischer Wirtschaftsweise

Grain yield and crude protein content of triticale varieties from organically cultivated sites in the humid climatic region in the years 2010-2014

Waltraud Hein^{1*}, Hermann Waschl¹

Abstract

The implementation of variety trials in organic farming is an important issue for organic farmers with respect to the selection of the most suitable variety. Within the Austrian Bionet project several triticale varieties are tested on different locations in regions with humid climate for grain yield, crude protein content and winter hardiness. The Department for Crop Farming of the ACER Raumberg-Gumpenstein carries out such field trials in Upper Austria and the northern parts of Styria on experimental research and farmers' fields in correspondence to the national VCU trials. The most important results from the period 2010-2014 are presented.

Keywords

cereal, organic agriculture, *Triticosecale*, winter hardiness

Einleitung

Der Anbau von Getreide in biologischer Wirtschaftsweise ist weit verbreitet, wozu vor allem Dinkel, Roggen, Hafer, aber auch Triticale zählen. Während bei Dinkel der biologisch erzeugte Anteil mehr als 86% beträgt, liegt dieser bei Triticale bei 21,2% (BMLFUW 2014). Was im Biolandbau ein ganz besonderes Augenmerk verlangt, ist die optimale Auswahl der Sorte.

Hier stehen neben dem Kornertrag und dem Rohproteingehalt natürlich die Pflanzengesundheit im Vordergrund, ebenso die gute, problemlose Überwinterung in Lagen, die eine längere geschlossene Schneedecke haben und somit nicht zu den ausgesprochenen Gunstlagen zählen.

Neben der offiziellen Sortenwertprüfung der AGES werden im Rahmen des Bionet-Projektes verschiedene Triticale-Sorten an unterschiedlichen Standorten angebaut, wobei die Abteilung Bio-Ackerbau der HBLFA Raumberg-Gumpenstein

Standorte in Oberösterreich und in der nördlichen Steiermark betreut. Ergebnisse aus den bisher durchgeführten Versuchen werden in diesem Beitrag vorgestellt.

Material und Methoden

Standorte

Die oberösterreichischen Standorte umfassen zwei Praxisbetriebe, einen im Mühlviertel und einen im Zentralraum. Der steirische Standort befindet sich an der Zentrale des Bioinstitutes, am Moarhof in Trautenfels (Tabelle 1). Die hier vorgestellten Versuche wurden in den Jahren 2010 bis 2014 durchgeführt. Dabei wurde in jedem Jahr auf jedem Standort ein Versuch angelegt.

Sorten

Das Sortenspektrum umfasste zum Großteil Sorten, die in die Österreichische Sortenliste eingetragen sind, aber auch einen geringen Anteil an solchen, welche keine Eintragung aufweisen (AGES 2010, 2011, 2012, 2013, 2014). Allerdings ist das Sortenspektrum an allen drei Standorten nicht immer ident und differiert je nach Saatgut-Verfügbarkeit von Jahr zu Jahr.

Methoden

Die Rohproteinbestimmung erfolgte entsprechend der ICC Standardmethode 167 (*Dumas Combustion Principle*, International Association for Cereal Science and Technology, Wien).

Tabelle 1: Charakteristika der Versuchsstandorte

Table 1: Description of the experimental sites (Location, altitude, annual mean temperature, precipitation)

Standort	Seehöhe (m NN)	Mittlere Jahrestemperatur (°C)	Niederschlag (mm)
Niederneukirchen (OÖ, Bezirk Linz-Land)	336	9,2	766
Pregarten (OÖ, Bezirk Freistadt)	425	7,2	693
Trautenfels (Moarhof, Stmk., Bezirk Liezen)	680	7,0	1010

¹ HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Institut für Biologische Landwirtschaft, Abteilung Ackerbau, Raumberg 38, 8952 IRDNING, Österreich

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

Ergebnisse und Diskussion

Die gewonnenen Ergebnisse umfassen sowohl Kornertrag als auch Rohproteingehalt der einzelnen Sorten auf den ausgewählten Standorten. Die Kornerträge wurden auf 86% Trockenmassegehalt umgerechnet. Die Bestimmung des Rohproteingehaltes erfolgte im chemischen Labor der HBLFA Raumberg-Gumpenstein. In *Tabelle 2* sind die mittleren Kornerträge und Rohproteingehalte auf den drei unterschiedlichen Standorten über alle fünf Versuchsjahre dargestellt. Die Kornerträge sind je nach Sorte und Standort unterschiedlich hoch, wobei 'Tulus' mit 68,8 dt/ha am Standort Moarhof den höchsten mittleren Ertrag gebracht hat. Der höchste Kornertrag am Standort Niederneukirchen wurde durch 'Trimmer' mit 64 dt/ha erzielt, am Standort Pregarten konnte 'Triamant' mit 62 dt/ha am besten abschneiden, wobei dort insgesamt die geringsten Kornerträge geerntet wurden. Was das Rohprotein betrifft, konnte der höchste Gehalt bei der Sorte 'Polego' erzielt werden, und zwar an den Standorten Pregarten und Niederneukirchen, am Standort Moarhof war es die Sorte 'Kitaro'. Die Rohproteingehalte schwanken ebenso stark wie die Kornerträge, speziell das Jahr 2014 brachte äußerst geringe Rohproteinwerte.

Im Vergleich mit anderen Triticale-Versuchen schneiden die Versuche durch die HBLFA Raumberg-Gumpenstein relativ gut ab, besonders, wenn man den alpinen Standort Moarhof betrachtet. So liegt der Kornertrag von Triticale in der von der SÄCHSISCHEN LANDESANSTALT (2009) herausgegebenen Infoschrift im Mittel bei 68,7 dt/ha, während er in den österreichischen Versuchen zwischen 54 und 59 dt/ha beträgt, der höchste Wert konnte am Moarhof erzielt werden. Ergebnisse aus anderen deutschen Bundesländern zeigen auch sehr weit gestreute Erträge, die im Schnitt der letzten drei Jahre 57 dt/ha im Versuchsmittel betragen (HOF-KAUTZ 2014). Die Kornerträge am Standort Lambach der offiziellen Sortenwertprüfung der AGES lagen im langjährigen Mittel bei 70 dt/ha in biologischer Bewirtschaftung (AGES 2014). Was die Rohproteingehalte betrifft, so liegen diese über den für eine Nutzung als Futtergetreide von STEINHÖFEL & LIPPMANN (2005) empfohlenen Mindestwerten von 88 g/kg Futtermittel in proteinreichen Konzentraten. In den Versuchen von HOF-KAUTZ (2014) lagen die Rohproteingehalte im dreijährigen Mittelwert bei 11,3% und somit über jenen aus den österreichischen Versuchen.

Grundsätzlich gelingt der biologische Anbau von Triticale recht gut, und das in unterschiedlichen Gebieten, sofern die Dauer einer geschlossenen Schneedecke nicht zu lange ist oder Kahlfröste das Getreide schädigt. Die Beobachtungsdaten zur Überwinterung sind speziell am alpinen Standort Moarhof von großem Interesse. Seit dem Jahr 2010 wurde immer im zeitigen Frühjahr eine Bonitur zu allfälligen Schäden durch Schneeschimmel oder anderen Überwinterungsproblemen durchgeführt. Meist gibt es einige wenige Sorten, die nach der Schneeschmelze Schäden zeigen, die sich aber durchaus auch wieder entsprechend auswaschen können, sofern das Ausmaß der Schädigung nicht zu umfassend ist. Der Winter 2011/12 brachte deutliche Schäden durch Schneeschimmel, wovon besonders die Sorten 'Kitaro' und 'Triamant' betroffen waren. Auch im darauffolgenden Winter gab es mäßige Auswinterungsprobleme, am stärksten traten diese bei 'Elpaso' und 'Agostino' auf. Trotzdem waren die im Jahr

Tabelle 2: Mittlere Kornerträge und Rohproteingehalte (2010-2014) der einzelnen Sorten auf unterschiedlichen Standorten in den Jahren

Table 2: Mean grain yield (dt/ha) and crude protein content (g/kg dm) (2010-2014) of triticale varieties on different locations

Sorten	Kornertrag (dt/ha)			Rohproteingehalt (g/kg TM)		
	NNK ¹	PRE	MOA	NNK	PRE	MOA
Agostino	62,52	58,26	59,82	97,9	101,9	105,8
Cosinus	62,46	55,75	65,96	96,4	94,3	104,9
Elpaso	55,57	49,33	55,09	97,2	100,5	110,4
Kitaro	50,74	51,09	55,82	110,9	123,0	116,0
Mungis	51,31	55,89	66,22	103,7	103,1	99,8
Polego	39,13	52,73	51,05	125,6	137,9	114,2
Presto	49,14	51,16	57,94	108,3	114,7	112,4
SW Talentro	50,03	57,96	52,38	107,4	113,2	113,7
Triamant	53,52	62,05	65,24	104,1	106,1	106,5
Trisidan	49,76	50,73	58,22	112,4	118,5	111,0
Trimmer	64,12	56,62	57,64	104,2	100,0	109,5
Tulus	59,67	58,94	68,76	96,9	96,8	99,2

¹ NNK, Niederneukirchen; PRE, Pregarten; MOA, Trautenfels

2013 erzielten Kornerträge hoch, ebenfalls die erhobenen Stroherträge, die im Versuchsmittel 43 dt/ha betragen. An den anderen Standorten gab es keine Auswinterungsschäden.

Obwohl Triticale eine gesunde Getreideart ist, zeigte sich im Jahr 2014 bei manchen Sorten ein mittlerer bis starker Befall mit Gelbrost, was auch von HOF-KAUTZ (2014) berichtet wird. Um hier aber sortenbedingte Anfälligkeiten feststellen zu können, bedarf es noch weiterer Beobachtungen in den folgenden Jahren.

Danksagung

An dieser Stelle soll jenen Landwirten gedankt werden, die im Rahmen des Bionet-Projektes seit Jahren kostenlos Flächen für die von der Abteilung biologischer Ackerbau der HBLFA Raumberg-Gumpenstein durchgeführten Versuche zur Verfügung stellen und diese auch ackerbaulich betreuen.

Literatur

- AGES, 2010, 2011, 2012, 2013, 2014: Österreichische Sortenliste 2010, 2011, 2012, 2013, 2014. Schriftenreihe 3/2010, 3/2011, 3/2012, 3/2013, 3/2014. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Wien.
- AGES, 2014: Österreichische Beschreibende Sortenliste 2014, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2104. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Wien.
- BMLFUW, 2014: Grüner Bericht 2014 - Bericht über die Situation der österreichischen Land- und Forstwirtschaft, Vollständiger Tabellenteil. Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft, Wien. [<http://www.gruenerbericht.at/>; accessed 12 Dec 2014]
- HOF-KAUTZ C, 2014: Landessortenversuche Öko-Triticale 2014: Gelbrost traf auch unauffällige Sorten. Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen, Münster. [<http://www.landwirtschaftskammer.de/landwirtschaft/ackerbau/getreide/triticale/triticale-oeko-sv-2014.htm>; accessed 12 Dec 2014].
- SÄCHSISCHE LANDESANSTALT FÜR LANDWIRTSCHAFT, 2009: Getreide im Ökologischen Landbau, Information für Praxis und Beratung. Fachbereich Bodenkultur und Pflanzenbau.
- STEINHÖFEL O, LIPPMANN I, 2005: Futtermittelsbeispiele für Ökobetriebe. Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft, Fachbereich Tierische Erzeugung, Köllitsch [http://www.landwirtschaft.sachsen.de/landwirtschaft/download/Futtermittelsbeispiele_OEKO.pdf; accessed 12 Dec 2014].

Genetische Variation des Merkmals Trockentoleranz in Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne* L.) - Evaluierung phänotypischer Selektionsmerkmale

Genetic variation of drought tolerance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) - evaluation of phenotypic selection traits

Peter Westermeier^{1*}, Evelin Willner², Andrea Wosnitza¹, Ulf Feuerstein³,
Wilbert Luesink⁴, Sabine Schulze⁵, Annegret Schum⁶, Stephan Hartmann¹

Abstract

In the future, global climate change is expected to limit yields in agricultural production due to water shortage in the periods relevant for plant growth. This will also affect perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), one of the most important grass species in Europe. One of the most promising approaches to overcome this problem is the genetic improvement of drought tolerance by breeding new varieties. In the presented project 200 accessions comprising *L. perenne* accessions from 20 countries and breeding material as well as some checks from drought tolerant grass species were tested in field trials at drought prone locations. The tested material showed large genetic variation for biomass production under drought conditions. Subsets of this material were tested for drought tolerance under controlled conditions in rain-out shelter, greenhouse and laboratory trials. The subsets of 20 and 50 accessions were used for measuring agronomic performance and detailed phenotyping under controlled drought conditions. Phenotypic traits for a high-throughput recording of drought response of either single plants or plots were tested and compared with yield data. Most of the tested traits showed high heritabilities on a plot as well as on single plant basis and high correlations with yield data were found. The visual scoring of biomass was found to be a suitable selection criteria. In our testset, tetraploid accessions were found to be more drought tolerant than diploid accessions, but drought response seems to be independent from flowering time. Single clones with different drought response could be selected for building segregating populations.

Keywords

controlled drought conditions, drought stress, phenotyping, perennial ryegrass, rain-out shelter

Einleitung

Der globale Klimawandel wird wesentlichen Einfluss auf die Pflanzenproduktion in Mitteleuropa haben. Die im 5. Sachstandsbericht des *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) erwarteten Auswirkungen stellen sich in Form von steigenden Durchschnittstemperaturen sowie sich ändernden Niederschlagsverteilungen dar (IPCC 2013). Negativ auf die Erträge vieler landwirtschaftlicher Kulturen wird sich die Häufung von Wetterextremen, wie Starkniederschläge und Überschwemmungen, sowie Hitzewellen und Trockenheit auswirken (HOV et al. 2013). In einer früheren Studie, die die Auswirkungen des Klimawandels auf den süddeutschen Raum untersuchte, wurde festgestellt, dass in diesem Gebiet im Sommerhalbjahr zwar die Niederschlagsmenge insgesamt gleich bleibt, jedoch die Anzahl an Trockentagen zunehmen wird (KLIWA 2005). Dadurch wird der Gehalt des Bodens an pflanzenverfügbarem Wasser größeren Schwankungen unterliegen als bisher, was zu trockenheitsbedingten Schäden an Pflanzen mit der Folge von Ertragsrückgängen und Ertragsausfällen führen wird (LOBELL und GOURDJI 2012).

Gerade Gräser werden überwiegend mehrjährig genutzt und sind dadurch während der Nutzungszeit vielfältigen Umweltbedingungen ausgesetzt, u.a. möglicherweise mehreren Trockenperioden. Zudem befinden sich Grünlandflächen häufig in Grenzlagen, darunter auch heute schon trockengefährdete Lagen, was verdeutlicht, dass Grünlandbestände in besonderem Maße von den Auswirkungen des Klimawandels betroffen sein werden. Da technische Maßnahmen wie künstliche Bewässerung gerade im Grünland nicht wirtschaftlich durchgeführt werden können, erscheint die züchterische Bearbeitung des Merkmals Trockentoleranz besonders zielführend für die künftige Ertragssicherung.

Das Zielmerkmal der züchterischen Selektion „Ertrag unter Trockenstress“ ist stark von Umweltbedingungen beeinflusst. Daher ist bei einer direkten Selektion auf das

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

² IPK Gatersleben - Genbank Teilsammlungen Nord, Inselstraße 9, 23999 MALCHOW/POEL, Deutschland

³ Deutsche Saatveredelung AG, Weissenburger Straße 5, 59557 LIPPSTADT, Deutschland

⁴ Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Hohenlieth, 24363 HOLTSEE, Deutschland

⁵ Saatzucht Steinach GmbH & Co KG, Wittelsbacherstraße 15, 94377 STEINACH, Deutschland

⁶ Julius Kühn Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Rudolf Schick-Platz 4, 18190 GROSS LÜSEWITZ, Deutschland

* Ansprechpartner: Peter WESTERMEIER, peter.westermeier@LfL.bayern.de

Merkmal aufgrund von niedrigen Heritabilitäten der zu generierende Zuchtfortschritt verhältnismäßig gering. Aus diesem Grund werden in der Trockentoleranzzüchtung häufig sekundäre Selektionsmerkmale verwendet, die einerseits eine gute Heritabilität und gleichzeitig eine hohe Korrelation mit dem Zielmerkmal besitzen. Auf diese Weise lässt sich der Zuchtfortschritt beschleunigen.

Das vorgestellte Projekt zur Trockentoleranz bei Deutschem Weidelgras hatte folgende Ziele: (i) Erfassung der phänotypischen Variation des Merkmals Trockentoleranz in Deutschem Weidelgras anhand eines 200 Akzessionen umfassenden Diversitätssortiments, (ii) Evaluierung und Optimierung von sekundären Selektionsmerkmalen zur Bestimmung der Toleranz gegenüber Trockenstress und Vergleich mit dem Zielmerkmal „Ertrag unter Trockenstress“, (iii) Weitergabe von Material und Methoden an die Züchter, um die Effizienz der Selektion in den Zuchtprogrammen zu erhöhen, und (iv) Selektion von Kandidatenklonen zum Aufbau genetischer Ressourcen für weiterführende Arbeiten.

Material und Methoden

Projektaufbau und Versuchsanlagen

Die Projektarbeiten waren in fünf Arbeitspakete gegliedert. In Arbeitspaket 1 wurden 200 diverse Akzessionen unter natürlichen Trockenstressbedingungen geprüft und daraus Subsets von in ihrer Trockenstressantwort möglichst diversen Akzessionen für die folgenden Arbeitspakete selektiert. Das komplette Sortiment wurde in den Jahren 2012 und 2013 an vier Standorten in Deutschland (Bornhof, Kaltenhof, Malchow und Triesdorf) sowie an einem Standort in Frankreich (Les Rosiers sur Loire) in jeweils 4 Wiederholungen in einer 20×10 Alphagitteranlage geprüft.

In Arbeitspaket 2 wurden im Jahr 2013 20 Akzessionen an insgesamt vier Standorten einer Leistungsprüfung mit mehrschnittiger Ertragsfeststellung unterzogen. Die Versuche wurden in vier Wiederholungen in einer randomisierten Blockanlage durchgeführt. Arbeitspaket 3 hatte die Prüfung von 50 selektierten Akzessionen unter kontrollierten Trockenbedingungen im *rain-out shelter* zum Gegenstand. Die Standorte der beiden *rain-out shelter* waren Kaltenhof auf der Insel Poel und Pulling bei Freising. Von jeder Akzession wurden zwei Wiederholungen als randomisierte Blockanlagen angelegt, die sich aus jeweils 20 Einzelpflanzen zusammensetzten. Die Einzelpflanzen wurden vor der Versuchsanlage im Herbst 2012 verklont, so dass im Jahr 2013 an beiden Standorten die identischen Genotypen geprüft werden konnten. Im Jahr 2013 wurden in beiden *rain-out shelter* jeweils zwei Trockenstressphasen simuliert, die Erste zwischen dem ersten und zweiten Schnitttermin im Frühjahr und die Zweite im Sommer zwischen drittem und viertem Schnitt. Die identischen Klone waren auch Grundlage für die Untersuchungen in Arbeitspaket 4. Unter Labor- und Gewächshausbedingungen wurden diese Klone, neben verschiedenen Tests im Keimlingsstadium, unter artifiziellen und damit gut charakterisierbaren Trockenstressbedingungen geprüft. Arbeitspaket 5 hat zur Aufgabe, die Daten aus allen Arbeitspaketen zusammenzufassen und gemeinsam auszuwerten. Die dargestellten Verrechnungen wurden

mit der Statistiksoftware R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2013) bzw. dem Statistikpaket Plabstat 3A (UTZ 2005) durchgeführt.

Pflanzenmaterial

Gegenstand der Untersuchungen waren insgesamt 200 diverse Grasakzessionen, die sich wie folgt zusammensetzten: 75 Akzessionen von *Lolium perenne* L. wurden von der Genbank IPK-Gatersleben zur Verfügung gestellt; 73 davon hatten eine diverse geographische Herkunft in Europa, die von Skandinavien bis Südeuropa reichte und zwei Akzessionen waren in Vorderasien beheimatet. Zusätzlich wurden von den beteiligten Züchterhäusern 111 Akzessionen von deutschem Weidelgras zur Verfügung gestellt, die sich aus aktuellen Sorten und Sortenkandidaten zusammensetzten. Ergänzt wurde das Diversitätsset durch Grasarten mit hoher Trockentoleranz. Dies waren im Einzelnen zehn Akzessionen des Wiesenschweidels (*Festulolium* Aschers. et Graebn.), sowie je zwei Akzessionen von Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.) und Rohrschwingel (*Festuca arundinacea* Schreb.).

Merkmalerhebung

In allen Versuchen wurden im Jahr 2013 zwischen vier und sechs Schnitttermine realisiert, die entweder als Schröpfschnitt durchgeführt wurden oder der Ertragsbestimmung dienten. An den Schnittterminen orientierten sich i.d.R. auch jeweils die durchgeführten visuellen Bonituren. Dies waren im Einzelnen die visuelle Bonitur der Massenbildung auf einer Skala von 1 bis 9, wobei 1 ein einzelner grüner Trieb je Pflanzenhorst war und 9 ein außerordentlich wüchsiger Pflanzenhorst. Diese Bonitur wurde sowohl direkt vor dem Schnitt (MBVSC) bzw. zehn Tage nach dem Schnitt (MBNSC) durchgeführt. Daneben wurde der visuelle Eindruck der Pflanzen unter Trockenstress (DURESD) auf einer Skala von 1 bis 9 erfasst, wobei 1 starke und 9 keine Trockenstresssymptome anzeigten. In diesem Merkmal wurden Reaktionen der Pflanzen auf Trockenstress wie Welke, Rollen der Blätter oder Gelbfärbung erfasst. In den *rain-out shelter* Versuchen wurden zusätzlich noch die Anzahl der lebenden Pflanzen (AZ) erfasst.

Ergebnisse und Diskussion

Die durchgeführten Untersuchungen in Arbeitspaket 1 umfassten ein breites Sortiment von Herkünften, die sowohl aktuelle Sorten und Sortenkandidaten als auch historische Sorten und Wildsammlungen aus der deutschen Genbank (IPK-Gatersleben) umfassten. Nahezu alle visuell erhobenen Merkmale wiesen hohe Heritabilitäten bei der Verrechnung über Orte auf (*Tabelle 1*). Eine Ausnahme stellt hier die visuelle Bonitur der Trockenstressantwort (DURESD) dar. Bei der Verrechnung über drei Standorte konnte keine signifikante genotypische Varianz aber eine hochsignifikante Ortsvarianz (Daten nicht gezeigt) festgestellt werden. Damit konnte aufgrund eines starken Ortseinflusses über die Orte hinweg keine Heritabilität ermittelt werden. Betrachtet man jedoch den Standort Les Rosiers sur Loire separat, so konnte hier eine Wiederholbarkeit von 57,9% festgestellt werden. Der Grund dafür ist, dass an diesem Standort

Tabelle 1: Heritabilitäten (h^2) und Signifikanz der genotypischen Varianzkomponente (σ^2_G) in der mehrortigen Verrechnung (Arbeitspaket 1, Vegetationsperiode 2013)

Table 1: Heritabilities (h^2) and significance of the genotypic variance component (σ^2_G) in the multi-location analysis (work package 1, growing season 2013)

Merkmal ¹	Versuchsort ²				h^2	σ^2_G
	MAL	KAL	ROS	TRS		
MBANF	×	×			86,06	**
MBVSC1		×		×	69,47	**
MBVSC2	×	×		×	70,52	**
MBVSC4		×		×	54,61	**
MBNSC2		×		×	54,19	**
DURESD		×	×	×	0,00	-

¹ MBANF, Massenbildung in der Anfangsentwicklung; MBVSC, Massenbildung vor dem jeweiligen Schnitttermin; MBNSC, Massenbildung zehn Tage nach Schnitttermin; DURESD, visuelle Trockenstressbonitur

² MAL, Malchow; KAL, Kaltenhof; ROS, Les Rosiers sur Loire; TRS: Triesdorf

ein ausgeprägter Trockenstress aufgetreten war, der eine ausreichende Differenzierung der Merkmalsausprägung ermöglichte. An den beiden anderen Standorten traten im Untersuchungsjahr 2013 nur milde Stressbedingungen auf, die in diesem Merkmal keine ausreichende Differenzierung und damit keine Vergleichbarkeit über Orte hinweg ermöglichte. Die Massenbildungsbonituren über Orte hinweg lieferten jedoch sowohl innerhalb der einzelnen Orte gute Wiederholbarkeiten (Daten nicht gezeigt), sowie gute Heritabilitäten über Orte hinweg (Tabelle 1), so dass zur Bewertung der einzelnen Akzessionen hauptsächlich die Massenbildungsbonituren herangezogen wurden und die Bonitur der Trockenstressantwort als unterstützendes Merkmal in der Selektion.

Hinsichtlich der im Untersuchungssortiment enthaltenen Materialgruppen diploid/tetraploid konnten im Jahr 2013 sowohl für das Merkmal der visuellen Trockenstressantwort am Standort Les Rosiers sur Loire, als auch für die Bonitur der Massenbildung nach Schnitttermin 4 signifikante Unterschiede festgestellt werden (Abbildung 1A). Die tetraploiden Vertreter im Sortiment wiesen dabei im Mittel eine größere

Trockentoleranz, als auch eine höhere Massenbildung auf, wenngleich auch einzelne Vertreter aus der diploiden Materialgruppe eine sehr gute Trockentoleranz zeigten. Die Ursachen für diese im untersuchten Sortiment gemachten Beobachtung könnten zum einen in der durch den Ploidieeffekt begründeten besseren Wüchsigkeit der tetraploiden Akzessionen liegen, die auch zu einem größeren Wurzelwachstum und damit zu einer Erschließung eines größeren Bodenvolumens geführt haben könnte. Zu bedenken ist dabei jedoch, dass es sich bei der tetraploiden Materialgruppe ausschließlich um bereits züchterisch bearbeitetes Material handelte, das auf Ertrag selektiert wurde, während in der diploiden Materialgruppe auch Akzessionen von unselektierten Wildsammlungen enthalten waren. Die Aufklärung des Einflusses der Ploidiestufe auf die Ausprägung von Trockentoleranz bedarf daher noch weiterer Untersuchungen. Ein signifikanter Einfluss des Blühzeitpunktes auf die Ausprägung von Trockentoleranz und Massenbildung zu Schnitttermin 4 konnte hingegen nicht nachgewiesen werden (Abbildung 1B).

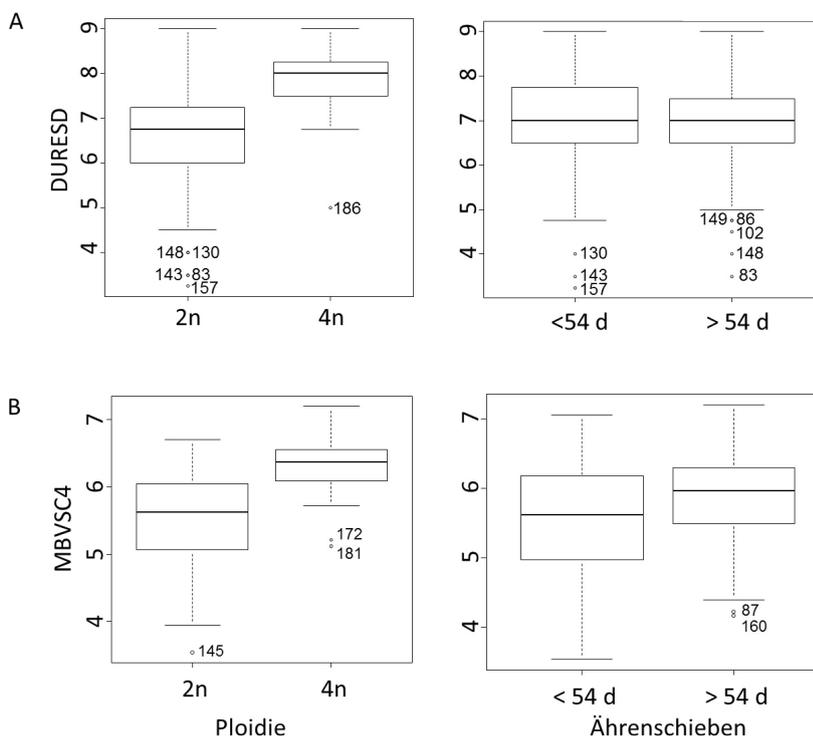


Abbildung 1: Visuelle Trockenstressbonitur am Standort Les Rosiers sur Loire (Wiederholbarkeit 57,9%) in den Materialgruppen diploid und tetraploid, sowie im früh bzw. spätblühenden Sortiment (A); visuelle Massenbildungsbonitur nach Schnitttermin 4 in der zweiortigen Verrechnung der Standorte Kaltenhof und Triesdorf (Heritabilität 54,6%) in den Materialgruppen diploid und tetraploid, sowie im früh bzw. spätblühenden Sortiment (B).

Figure 1: Visual scoring of drought response at location Les Rosiers sur Loire (repeatability 57.9%) in the diploid and tetraploid material and in early and late flowering material (A); visual biomass growth after cutting date 4 in a two-location analysis (Kaltenhof and Triesdorf; heritability 54.6%) in the diploid and tetraploid material and in early and late flowering material (B).

In Arbeitspaket 3 konnten durch das besondere Versuchsdesign mit definierten Kleinparzellen à 20 Einzelpflanzen sowohl Bewertungen auf der Basis der Parzelle, als auch auf Einzelpflanzenbasis erfolgen. Durch die Verklonung der Einzelpflanzen konnten für die beiden *rain-out shelter* Standorte eine größtmögliche Vergleichbarkeit der Daten in beiden Betrachtungen erreicht werden. Tabelle 2 gibt einen Überblick über einen Teil der erfolgten visuellen

Tabelle 2: Wiederholbarkeiten (rep) und Signifikanz der genotypischen Varianzkomponente (σ^2_G) der Einzelstandorte und Heritabilitäten (h^2) und Signifikanz der genotypischen Varianzkomponente in der zweiortigen Verrechnung (Arbeitspaket 3, Vegetationsperiode 2013)

Table 2: Repeatabilities (rep) and significance of the genotypic variance component (σ^2_G) and heritabilities (h^2) and significance of the genotypic variance in the analysis across two locations (work package 3, growing season 2013)

Merkmal ¹	Pulling		Kaltenhof		2 Orte	
	rep	σ^2_G	rep	σ^2_G	h^2 (%)	σ^2_G
MBVSC1	55,82	**	54,34	**	86,09	**2
MBVSC2	67,20	**	61,84	**	85,47	**
MBVSC3	71,56	**	66,47	**	89,19	**
MBVSC4	77,17	**	73,49	**	90,82	**
MBVSC5	73,78	**	71,51	**	92,95	**
MBVSC6	63,25	**	59,09	**	92,06	**
AZ1	12,80	-	7,93	-	87,93	**
AZ2	19,20	+	14,38	-	59,03	**
AZ3	43,33	**	38,49	**	64,10	**
AZ4	54,31	**	49,68	**	78,95	**
AZ5	61,64	**	57,55	**	84,16	**
AZ6	66,57	**	62,65	**	87,32	**
CUT1	60,28	**	62,96	**	89,24	**
CUT3	46,44	**	62,31	**	86,86	**
CUT5	82,65	**	66,98	**	80,46	**
CUT6	80,96	**	67,75	**	90,32	**
DURESD1	2,99	-	7,21	-	72,06	**
DURESD2	55,51	**	56,71	**	52,84	**

¹ MBVSC, Massenbildung vor dem jeweiligen Schnittermin; AZ, Anzahl lebender Pflanzen; CUT, Biomassertrag beim jeweiligen Schnittermin; DURESD, visuelle Trockenstressbonitur

² **, $p < 0,01$; +, $p < 0,10$

Bonituren und zusätzlich zu den erfolgten Ertragsbestimmungen. Die im Frühjahr geplante Trockenstressphase zeigte aufgrund von starkniederschlagsbedingten Schwierigkeiten an beiden Standorten sehr niedrige Wiederholbarkeiten und konnte nicht für eine Selektion herangezogen werden.

Akzessionen mit guter Trockentoleranz identifiziert werden. Viele davon entstammten der tetraploiden Materialgruppe, jedoch waren auch einige diploide Vertreter darunter. Auf Basis der Einzelpflanzenbonituren konnten zudem Einzelklone mit divergierender Trockenstressantwort selektiert

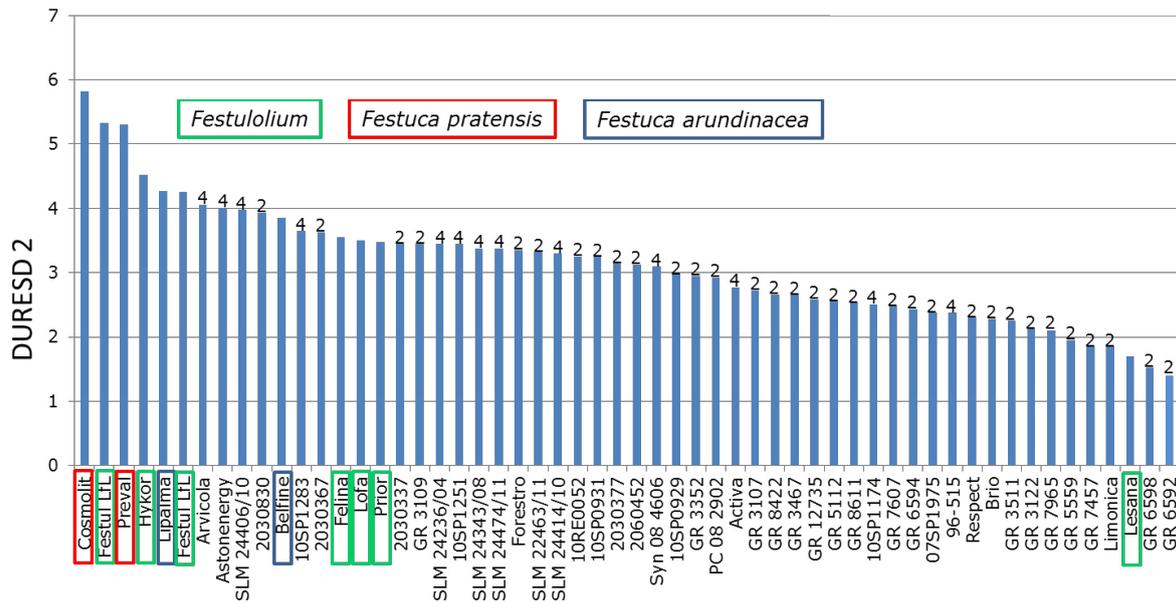


Abbildung 2: Ergebnisse der visuellen Trockenstressbonitur im Sommer. Adjustierte Mittelwerte über zwei rain-out shelter Standorte im Jahr 2013. Die Zahlen über den Balken geben die Ploidiestufe der einzelnen Akzessionen an.

Figure 2: Results of visual drought response scoring in summer. Adjusted means calculated for two rain-out shelter locations in 2013. The figures above the bars show the ploidy level of each accession.

werden. Ein Beispiel für jeweils zwei trockenolerante bzw. trockenanfällige Klone aus der gleichen Akzession ist anhand der visuellen Massenbildungsboniturnote in der Vegetationsperiode 2013 in *Abbildung 3* dargestellt. Während die anfälligen Klone bereits auf die wenig ausgeprägte erste Trockenstressphase mit einem starken Abfall in der Massenbildung reagierten und sich von diesem Rückgang auch nicht mehr erholten, reagierten die als tolerant eingestuften Klone auf die erste Trockenstressphase nicht nennenswert und auf die zweite Phase mit einem mäßigen Rückgang der Massenbildung, von dem sie sich aber rasch wieder erholen konnten. Das auf diese Weise selektierte Material soll dazu verwendet werden, für das Merkmal Trockentoleranz spaltende Populationen aufzubauen, die als Ressource in genetischen Untersuchungen zur Trockentoleranz eingesetzt werden sollen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass im untersuchten Pflanzenmaterial eine große genetische Variation für Trockentoleranz vorgefunden wurde, die sowohl innerhalb von Akzessionen als auch zwischen Akzessionen vorhanden war. Die visuelle Bonitur der Massenbildung konnte als schnell zu erfassendes, geeignetes sekundäres Selektionsmerkmal für den Vergleich über Versuchsstandorte hinweg identifiziert werden. Die visuelle Bonitur der Trockenstressantwort lieferte hingegen nur bei starken Stressbedingungen wiederholbare Werte. Durch die hohen Korrelationen der visuellen Massenbildungsbonitur mit den gemessenen Erträgen war es möglich, in Kombination mit der visuellen Trockentoleranzbonitur Genotypen zu selektieren, die einerseits eine gute Trockentoleranz zeigen und gleichzeitig ein hohes Ertragsniveau aufweisen und die auf diese Weise direkt in aktuelle Zuchtprogramme einfließen können. Die tetraploiden Akzessionen des Sortiments zeigten nach Trockenstress eine signifikant höhere Massenbildung als die diploiden Akzessionen. Sowohl die Massenbildung als auch die Trockenstressantwort zeigten sich unabhängig vom Blühzeitpunkt der Akzessionen, so dass es möglich erscheint, in allen Blühzeitpunktgruppen trockenolerante Genotypen zu selektieren. Auf der Basis der erhobenen Daten konnten Einzelklone mit divergierender Trockenstressantwort selektiert werden.

Danksagung

Die Studie wurde gefördert im Rahmen des Innovationsförderprogramms des Deutschen Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) FKZ: 28-1-45.029-10.

Literatur

IPCC, 2013: Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the

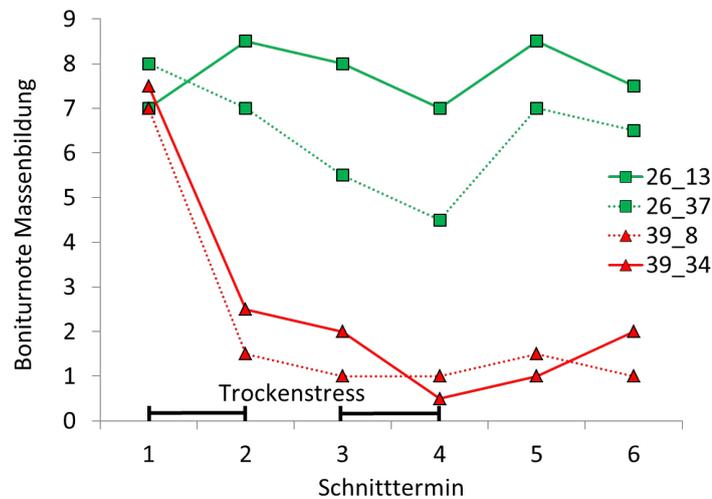


Abbildung 3: Beispiele für die Selektion trockenoleranter und anfälliger Klone (basierend auf adjustierten Mittelwerten aus zwei *rain-out shelter* Standorten 2013)

Figure 3: Examples for the selection of drought tolerant and drought susceptible clones (based on adjusted means of two *rain-out shelter* locations in 2013)

Intergovernmental Panel on Climate Change. STOCKER TF, QIN D, PLATTNER GK, TIGNOR M, ALLEN SK, BOSCHUNG J, NAUELS A, XIA Y, BEX Y, MIDGLEY PM (Eds). Cambridge University Press, Cambridge, UK. [<http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>; accessed 12 Dec 2014].

KLIWA, 2005: Der Klimawandel in Bayern für den Zeitraum 2021-2050. Kurzbericht des Projektverbundes Klimaveränderung und Wasserwirtschaft. Kooperationsvorhaben Klimaveränderung und Konsequenzen für die Wasserwirtschaft (KLIWA), Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München. [<http://www.kliwa.de/download/kliwazukunftsbeyby.pdf>; accessed 3 Dec 2014].

LOBELL DB, GOURDJII SM, 2012: The influence of climate change on global crop productivity. *Plant Physiol* 160, 1686-1697. DOI: 10.1104/pp.112.208298.

HOV Ø, CUBASCH U, FISCHER E, HÖPPE P, IVERSEN T, KVAMSTØ NG, KUNDZEWICZ ZW, REZACOVA D, RIOS D, DUARTE SANTOS F, SCHÄDLER B, VEISZ O, ZEREFOS C, BENESTAD R, MURLIS J, DONAT M, LECKEBUSCH GC, ULBRICH U, 2013: Extreme weather events in Europe: preparing for climate change adaptation. Norwegian Meteorological Institute, The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo, Norway. [http://www.easac.eu/fileadmin/PDF_s/reports_statements/Extreme_Weather/Extreme_Weather_full_version_EASAC-EWWG_final_low_resolution_Oct_2013f.pdf; accessed 3 Dec 2014].

R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013: R: A language and environment of statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna [<http://www.R-project.org>].

UTZ HF, 2005: PLABSTAT - Ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten. Version 3A. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Stuttgart.



Long-term yield trends in German official variety trials to assess the value for cultivation and use (VCU) and in national on-farm yields

Friedrich Laidig^{1*}, Hans-Peter Piepho², Thomas Drobek¹, Uwe Meyer¹

Abstract

In recent years numerous studies have been published on breeding progress, yield gaps and global food security. An increasing world population, rising food prices and predicted climate change were the reasons for this increasing concern.

Results of yield progress for five cereal crops, for grain and silage maize, winter oilseed rape, sugar beets, perennial and Italian ryegrass from official German variety trials over the period 1983 until 2012 were presented covering around 85% of arable land. The trial results were based on newly released and standard varieties. We paid special attention to dissect progress into a genetic and a non-genetic (agronomic) trend in order to quantify the contribution caused by new varieties and by agronomic factors. We applied a new approach to estimate trends by using mixed models including linear regression components for genetic and agronomic trends and for overall trends. National on-farm yields were compared with official VCU-trial yields with particular focus on the question whether gaps are widening over time.

The overall yield trend in variety trials was in the range of 0.15% p.a. for perennial ryegrass total dry matter to 2.04% p.a. for sugar yield, based on 1983 yield levels. New varieties are the driving force of yield improvement. For genetic trend, the lowest rate was observed with perennial ryegrass (0.16%) and the highest with grain maize (1.82%). No decline of genetic progress was observed over time and all rates were significant at $p < 0.001$. The agronomic trend was of minor importance and between -0.75% for forage maize and 0.20% for winter wheat, excluding sugar beets. For sugar yield the agronomic trend (1.12%) was even higher than the genetic trend (0.83%). The results showed that for crops other than sugar beets there would have been only moderate increases in yield, for some crops even a decline (forage and grain maize, perennial ryegrass), if no new varieties had been released. Increase in on-farm yields was in a wide range of 0.01% for forage maize fresh matter yield to 2.24% for grain maize. Progress in trial yield was transferred only

partially to on-farm yield. Relative gaps in 2012 were found in the range from 23% for winter wheat to 43% for winter rye. The most remarkable change occurred in maize. Gaps for grain maize reduced from 30% to 24%, in contrast to forage maize it widened from 20% to 30% from 1983 to 2012, respectively.

Various reasons may be responsible for the apparent gaps, depending on the crop. Shift in acreage, agricultural policy measures and economic reasons to reduce input seem to be of major influence. For the future new improved varieties must continue to be the driving force to generate yield progress. Advanced and locally adapted management technology is needed to translate genetic gain to higher farm yields in order to close yield gaps and to keep in pace with an increasing demand for food needed for a growing world population, and in Germany especially for covering a growing demand for biogas production and renewable resources.

References

- AHLEMEYER J, FRIEDT W, 2011: Entwicklung der Weizenträge in Deutschland - Welchen Anteil hat der Zuchtfortschritt? In: 61. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 23-25 Nov 2010, Raumberg-Gumpenstein, 19-23. HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Irdning, Austria.
- LAIDIG F, PIEPHO HP, DROBEK T, MEYER U, 2014: Genetic and non-genetic long-term trends of 12 different crops in German official variety performance trials and on-farm yield trends. *Theor Appl Genet* 127: 2599-2617. DOI: 10.1007/s00122-014-2402-z.
- MACKAY IJ, HORWELL A, GARNER J, WHITE J, MCKEE J, PHILPOTT H, 2011: Reanalysis of the historical series of UK variety trials to quantify the contributions of genetic and environmental factors to trends and variability in yield over time. *Theor Appl Genet* 122: 225-238. DOI: 10.1007/s00122-010-1438-y.
- PIEPHO HP, LAIDIG F, DROBEK T, MEYER U, 2014: Dissecting genetic and non-genetic sources of long-term yield in German official variety trials. *Theor Appl Genet* 127: 1009-1018. DOI: 10.1007/s00122-014-2275-1.
- RIJK B, VAN ITTERSUM M, WITHAGEN J, 2013: Genetic progress in Dutch crop yields. *Field Crop Res* 149: 262-268. DOI: 10.1016/j.fcr.2013.05.008.

¹ Bundessortenamt, Osterfelddamm 80, 30627 HANNOVER, Deutschland

² Bioinformatics Unit, Institute of Crop Science, University of Hohenheim, Fruwirthstraße 23, 70599 STUTTGART, Deutschland

* Corresponding author: Friedrich LAIDIG, laidigbsa@gmx.de



Optimum breeding strategies for hybrid wheat

C. Friedrich H. Longin^{1*}, Jochen C. Reif², T. Würschum¹

Abstract

Recent experimental studies confirmed a high commercial potential for hybrid wheat requiring profound studies on potential breeding strategies and their long-term success. Therefore, we developed a theoretical framework for the comparison of the selection gain of hybrid vs. line breeding, elaborate key parameters affecting selection gain in this comparison, and elaborate the best breeding strategy for hybrid wheat. The expected selection gain was smaller in hybrid than in line breeding and depended strongly on the hybrid seed production costs and the genetic variance available in hybrid vs. line breeding. Owing to heterosis, the predicted future yield potential of hybrids was competitive with lines in the near future. On a long-term, however, the competitiveness of hybrid compared to line breeding is questionable and depends on a number of factors especially the breeding strategy used.

For this reason, we performed model calculations to optimize the number of lines, testers and test locations in four different breeding strategies. A breeding strategy (BS2) combining the evaluation of line *per se* performance and general combining ability (GCA) had a far larger annual selection gain across all considered scenarios than a breeding strategy (BS1) focusing only on GCA. In

this combined strategy, the production of testcross seed conducted in parallel with the first yield trial for line *per se* performance (BS2_{rapid}) resulted in a further increase of the annual selection gain. For the current situation in hybrid wheat, this relative superiority of the strategy BS2_{rapid} amounted >60% in annual selection gain compared to BS1. Varying a large number of parameters, we identified the high costs for hybrid seed production and the low variance of GCA in hybrid wheat breeding as key parameters limiting selection gain in hybrid wheat.

Acknowledgments

We acknowledge the financial support by BMBF within the HYWHEAT project (Grant ID: FKZ0315945D).

References

- Longin CFH, Reif JC, Würschum T, 2014: Long-term perspective of hybrid versus line breeding in wheat based on quantitative genetic theory. *Theor Appl Genet* 127: 1635-1641. DOI: 10.1007/s00122-014-2325-8.
- Longin CFH, Mi X, Melchinger AE, Reif JC, Würschum T, 2014: Optimum allocation of test resources and comparison of breeding strategies for hybrid wheat. *Theor Appl Genet* 127: 2117-2126. DOI: 10.1007/s00122-014-2365-0.

¹ State Plant Breeding Institute, University of Hohenheim, Fruwirthstraße 21, 70599 STUTTGART, Deutschland

² Leibniz Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research (IPK) Gatersleben, Corrensstraße 3, 06466 STADT SEELAND, Deutschland

* C. Friedrich H. LONGIN, friedrich.longin@uni-hohenheim.de



Entwicklung männlich-steriler Triticale-Linien mit Hilfe von *Aegilops kotschy*-Cytoplasma und der Weizen-Roggen-Translokation 1BL.1RS

Development of male-sterile triticale lines using *Aegilops kotschy*-cytoplasm and the wheat-rye translocation 1BL.1RS

Friedrich J. Zeller^{1*}, Alfred Baumann¹, Martin Müller¹

Abstract

Using a *Triticum durum* line possessing the 1BL.1RS wheat-rye translocation and diploid winter rye cultivars 'Conduct' and 'Dukato', two hexaploid primary triticale lines were produced by colchicine treatment of the F₁ hybrids. The triticale lines were male-fertile. In a second step male-sterile triticale lines were produced by crossing a male-sterile *T. durum* line possessing *Aegilops kotschy* cytoplasm and the 1BL.1RS translocation to the same rye cultivars. The F₁ hybrids were also colchicine treated. The fertile triticale lines served as maintainer

by crossing them to the male-sterile lines. The haploid frequencies in the progenies of the hybrids between male-sterile lines and the maintainer were between 0 and 44% in the *T. durum*×Conduct cross and between 0 and 42% in the *T. durum*×Dukato cross. It appears that the production of hybrid triticale is feasible by applying the *Ae. kotschy*-translocation method.

Keywords

1BL.1RS translocation, cytoplasmic male sterility, hexaploid triticale, *Secale cereale*, *Triticum durum*

Einleitung

Den beiden Amerikanern WILSON & ROSS (1962) gelang als Erste der Nachweis, dass die Einlagerung des Genoms von Saatweizen in *Triticum timopheevii*-Cytoplasma Pollensterilität hervorruft. Vierzig Jahre später gelang es GORAL (2002), GORAL et al. (2006) und STOJALOWSKI et al. (2013) *T. timopheevii*-Cytoplasma in Triticale einzukreuzen, Pollensterilität auszulösen und die Fertilität wieder herzustellen. In Deutschland wurden im Jahr 2011 die Sommer-Triticaleorte 'Kulula', im Jahr 2012 die Winter-Triticaleorte 'HYT Prime' und im Jahr 2014 die Wintersorten 'HYT Gamma' bzw. 'HYT Max' vom Bundessortenamt in Hannover zugelassen. Alle Sorten sind Einfach-Hybriden und besitzen ein Cytoplasma unbekannter Herkunft. Sie wurden von Elmar Weissmann, Singen, gezüchtet.

Die Japaner MUKAI & TSUNEWAKI (1979) schlugen vor, zur Herstellung von Pollensterilität in *T. aestivum* das Cytoplasma der tetraploiden, weizenverwandten Wildart *Aegilops kotschy* zu verwenden. Sie fanden, dass nach Einkreuzung von *Ae. kotschy*-Plasma in die 1BL.1RS-Weizen-Roggen-Translokationsorte 'Salmon' (TSUNEWAKI 1964, ZELLER 1973) männliche Sterilität hervorgerufen wird. Die Restaurierung der Fertilität erfolgt durch das dominante Restorerger *Rfv1*, das auf dem kurzen Arm des Weizenchromosoms 1B lokalisiert ist (MUKAI & TSUNEWAKI 1979). Mit Hilfe der durch das Cytoplasma von *Ae. kotschy* und der 1BL.1RS-Translokation verursachten Pollensterilität sowie des Restorergens *Rfv1* schlugen TORIYAMA et al. (1993) ein Zuchtschema zur Herstellung von Hybridweizen vor.

Hexaploider Triticale (\times *Triticosecale* Wittmack) mit dem Genom AABBRR ($2n = 6x = 42$) besitzt ein komplettes Weizenchromosomenpaar 1B, das durch die 1BL.1RS-Translokation ersetzt werden kann. In einer solchen Linie fehlt nicht nur der Weizenchromosomenarm 1BS, sondern auch das Restorerger *Rfv1*, das auf diesem Arm lokalisiert ist. Wenn ein 1BL.1RS-Triticale in *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingelagert wird, kann man erwarten, dass die männlichen Gameten steril werden.

Die folgende Untersuchung hat das Ziel, cytoplasmatisch männliche Sterilität in hexaploiden Triticale zu induzieren, die Sterilität mit Hilfe von *Maintainer*-Linien zu erhalten und nach Möglichkeit die Fertilität wieder herzustellen.

Material und Methoden

In der folgenden Untersuchung wurde eine 1BL.1RS-Translokation eines hexaploiden *aestivum*-Weizens zunächst in einen tetraploiden Durumweizen eingekreuzt (FRIEBE et al. 1987). Diese Linie wurde mit den Roggensorten 'Conduct' und 'Dukato' gekreuzt, einer Embryokultur unterzogen und anschließend colchiziniert. Die hexaploiden Triticale-Linien dienten später als *maintainer*. Zur Herstellung der sterilen Triticale-Linie wurde 'Salmon' in *Ae. kotschy*-Cytoplasma mit der 1BL.1RS-Translokationsorte 'Disponent' gekreuzt und rückgekreuzt. Die (*kotschy*)-Salmon Linie stellte K. Tsunewaki, Kyoto, Japan, zur Verfügung. (*kotschy*)-Disponent wurde anschließend als weiblicher Elter mit der 1BL.1RS-Durumlinie gekreuzt und mit dieser Durumlinie rückgekreuzt. Nach jeder Generation wurde mit Hilfe der Mitoseanalyse die somatische Chromosomenzahl mikros-

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

* Friedrich ZELLER, fjzeller@yahoo.de

kopisch bestimmt. In der zweiten Rückkreuzungsgeneration konnte eine allo-plasmatische, tetraploide Linie mit $2n = 28$ Chromosomen selektiert werden (HSAM & ZELLER 1993). Diese Linie war männlich-steril.

Blüten dieser *T. durum*-Linie wurden die Antheren entfernt und mit Pollen der Roggensorten 'Conduct' und 'Dukato' bestäubt. Nach 14 Tagen wurden die Karyopsen aus der Ähre entnommen, nach Oberflächensterilisierung und Spülung mit Sterilwasser die Embryonen unter einem Binokular extrahiert und auf ein Nährmedium gelegt. Die Kultivierung der Embryonen erfolgte im Brutschrank bei ca. 23°C in Dunkelheit. Nach etwa drei bis vier Wochen wurden die Petrischalen mit den Embryonen für ca. zwei bis drei Wochen unter Licht gestellt und anschließend auf ein Regenerationsmedium umgesetzt. Nach weiteren vier Wochen wurden die jungen Pflänzchen in Erde überführt. Die Colchizinierung zur Chromosomenverdoppelung erfolgte im Drei bis Fünf-Blatt-Stadium. Die Wurzeln wurden auf ca. vier bis fünf Zentimeter gekürzt und die Blätter zurückgeschnitten. Anschließend wurden die Pflanzen fünf Stunden lang in Colchizinlösung gestellt. Nach der Colchizinbehandlung wurden die Pflanzen 30 Minuten unter fließendem Wasser gewaschen und dann wieder in Erde umgepflanzt. Die Kulturbedingungen waren die Gleichen wie vor der Behandlung. Nach etwa zwei bis drei Wochen trieben neue Wurzeln beziehungsweise Triebe aus. Die alten Triebe starben ab.

Saatgut der 1BL.1RS-Durumlinie sowie der in *kotschy*-Cytoplasma eingelagerten translozierten tetraploiden Linie stammte aus früheren, eigenen Untersuchungen (FRIEBE et al. 1987). Die Winterroggensorte 'Conduct' wurde von der KWS, Lochow, Bergen, die Wintersorte 'Dukato' von der Hybro Saatzeit, Schenkenberg, zur Verfügung gestellt. Die Triticale-Sorte 'Logo' erhielten wir von der Saatzeit Hege, Waldenburg, die Sorte 'Nilex' von der Saatzeitgesellschaft Nordsaat, Halberstadt und die Sorte 'Somtri' von der Secobra Saatzeit, Lemgo. Die Sorte 'Nagano' stellte die Zuchtfirma DANKO Hodowla Roślin Sp. z o.o., Choryń, Polen, zur Verfügung.

Ergebnisse

Herstellung primärer Triticale-Linien

Zur Herstellung primärer Triticale-Linien mit einer 1BL.1RS-Weizen-Roggen-Translokation wurde die oben beschriebene 1BL.1RS-Durum-Linie als weiblicher Elter mit den Roggensorten 'Conduct' und 'Dukato' gekreuzt. Nach etwa 14 Tagen wurden aus den Ähren der F_1 -Pflanzen Karyopsen gewonnen.

Aus der Kreuzung mit der Sorte 'Conduct' wurden 90 Karyopsen regeneriert und einer Embryonenkultur unterzogen. Acht Individuen besaßen einen normalen Embryo. Insgesamt konnten drei Pflanzen herangezogen werden, von denen nur eine die Colchizinierung überlebte. Diese Pflanze bildete 17 Bestockungstriebe. Sechzehn Ähren waren steril, eine einzige fertil. Diese bildete fünf Körner aus. Nach der Colchizinierung wurden insgesamt vier Pflanzen der Kombination 1BL.1RS-Durum×Conduct zu Pflanzen herangezogen. Diese bildeten Ähren aus und waren pollen-

fertil. Sie dienten später als *maintainer*. Das Merkmal *hairy neck* spaltete in diesen Linien, das heißt, die Pflanzenhalme unterhalb der Ähre waren sowohl glatt als auch behaart. Die Antheren waren leicht rötlich gefärbt.

In den Kreuzungen der 1BL.1RS-Durum-Linie mit der Roggensorte 'Dukato' wurden 42 Karyopsen gewonnen, davon vier Embryonen extrahiert und weiter kultiviert. Die Embryonen wurden auf Nährmedien umgepflanzt, anschließend colchiziniert und zu Pflanzen herangezogen. Zwei Pflanzen waren pollenfertil, ihre Halme unterhalb der Ähre unbehaart.

Herstellung männlich-steriler Triticale-Linien

Zur Herstellung männlich-steriler Triticale-Linien wurden aus der Kreuzung der männlich-sterilen *kotschy*-1BL.1RS-Durum-Linie mit der Roggensorte 'Conduct' 106 Karyopsen gewonnen, aus denen 16 Embryonen extrahiert werden konnten. 77 Individuen enthielten weder Embryo noch Endosperm und wurden verworfen. Die Embryonen wurden auf Nährmedien weiter kultiviert und einer Colchizinierung unterzogen. Sieben Pflanzen kamen zur Bestockung und entwickelten Ähren mit pollensterilen Blüten. Die Kreuzungsnachkommenschaft der männlich-sterilen *kotschy*-1BL.1RS-Durum-Linie mit der Roggensorte 'Conduct' erhielt den Namen Mize. Einige Pflanzen besaßen wie ihre fertilen *maintainer* unterhalb der Ähre einen behaarten, andere einen unbehaarten Hals. Die Antheren waren rötlich gefärbt.

Aus der Kreuzung der männlich-sterilen *kotschy* 1BL.1RS-Durum-Linie mit der Roggensorte 'Dukato' wurden 52 Karyopsen gewonnen, aus denen 16 Embryonen extrahiert werden konnten. 27 Individuen wurden verworfen, da sie weder einen Embryo noch Endosperm enthielten. Die 16 Individuen mit Embryo wurden weiter kultiviert und später colchiziniert. Insgesamt elf Individuen entwickelten sich zu Pflanzen, die sich bestockten und Ähren schoben. Die Blüten waren ausnahmslos männlich steril. Die Kreuzungsnachkommenschaft der männlich sterilen *kotschy*-1BL.1RS-Durum-Linie mit der Roggensorte 'Dukato' wurde Raze genannt. Die cytoplasmatisch männlich-sterilen Linien Mize und Raze wurden mit den entsprechenden pollenfertilen Linien der Kombination 1BL.1RS-Durum×Conduct bzw. Dukato gekreuzt und setzten Samen an.

Haploidenfrequenz in der Nachkommenschaft der Kreuzung männlich-steriler Triticale-Linien mit dem Maintainer

Es ist bekannt, dass bei der Erzeugung von Saatgut in der Nachkommenschaft steriler *kotschy*-1BL.1RS-Weizen in Kreuzung mit dem entsprechenden *maintainer* mehr als 20% der entstehenden Pflanzen haploid sein können (TS-UNEWAKI & MUKAI 1990). Aus diesem Grund wurden Pflanzen der Kreuzung zwischen männlich sterilen *kotschy* 1BL.1RS-Triticale-Linien und fertilem 1BL.1RS-Triticale (*maintainer*) in Wurzelspitzenzellen auf ihre somatische Chromosomenzahl untersucht (Tabelle 1). Es war zu erwarten, dass auch in Triticale-Linien mit *kotschy*-Cytoplasma haploide Individuen auftreten.

Tabelle 1: Ploidiestufen und Aneuploide der Nachkommen aus der Kreuzung Triticale Mize (männlich steril, Roggensorte 'Conduct') \times maintainer

Table 1: Ploidy levels and aneuploidy of the progeny from the hybrid triticale Mize (male sterile, rye cultivar 'Conduct') \times maintainer

Linie	Σ	Diploid	Haploid	Tetraploid	Aneuploide
A	21	19	0	0	2n = 40+t: 1 (mono-telosom) 2n = 41: 1 (monosom)
B	21	4	0	16	n = 14: 1 (diploid)
C	39	18	21	0	0

Die Nachkommen aus der Kreuzung der colchizinierten cms-*T. durum*-Linie mit der 1BL.1RS-Translokation \times Conduct (Mize) wurden cytologisch untersucht. In der Linie A traten zwei aneuploide Individuen, aber keine Haploiden auf (Tabelle 1). Isolierte Ähren waren steril und wurden mit dem *maintainer* gekreuzt. In Linie B waren alle Nachkommen mit einer Ausnahme tetraploid (2n = 28). In Linie C traten in der Nachkommenschaft 21 Haploide und 18 Diploide auf.

Die Nachkommen aus der Kreuzung der colchizinierten cms-*T. durum*-Linie mit der 1BL.1RS-Translokation \times Dukato (Raze) wurden ebenfalls mitotisch untersucht (Tabelle 2). In Linie A waren von 54 Individuen 23 haploid (42,5%). Bei Linie B lag der Anteil der Haploiden bei 0,7%, und bei den Linien C und D traten überhaupt keine Haploiden auf. Ein Teil der Ähren der Linien B, C und D wurden isoliert und erwiesen sich als männlich steril. Der andere Teil wurde mit den entsprechenden *maintainern* gekreuzt. Neben haploiden Individuen wurde in der Nachkommenschaft ein kleiner Anteil aneuploider Pflanzen gefunden.

Tabelle 2: Ploidiestufen und Aneuploide der Nachkommen aus der Kreuzung Triticale Raze (männlich steril, Roggensorte 'Dukato') \times maintainer

Table 2: Ploidy levels and aneuploidy of the progeny from the hybrid triticale Raze (male sterile, rye cultivar 'Dukato') \times maintainer

Linie	Σ	Diploid	Haploid	Aneuploide
A	57	33	23	n = 20: 1 (mono-haploid)
B	31	27	2	2n = 35: 1 (pentaploid) 2n = 41: 1 (monosom)
C	43	40	0	2n = 41: 3 (monosom)
D	11	7	0	2n = 41: 1 (monosom) 2n = 40+t: 1 (mono-telosom) 2n = 40+2t: 1 (di-telosom) 2n = 39 + 2t: 1 (di-telosom)

Chromosomale Zusammensetzung der cms Triticale-Linien und Restaurierung der Fertilität

Einige Pflanzen der Nachkommenschaftslinien aus den Kreuzungen zwischen cms-Triticale und den *maintainern*, die keine oder nur sehr wenig Haploide produzierten, wurden cytologisch untersucht. In allen Fällen wurden vier Satelliten (Sat)-Chromosomen beobachtet. Die Chromosomen 1B und 6B besitzen in der Mitose gut erkennbare Sat-Regionen. Dem 1BL.1RS-Translokationschromosom, dagegen, fehlt diese Sat-Region. Wenn vier Sat-Chromosomen auf-

treten, muss das 1BL.1RS-Translokationschromosomenpaar verloren gegangen sein. Dieses Phänomen wurde sowohl in den Mize als auch in den Raze Linien beobachtet. Die *maintainer*-Linien waren in der Lage, die Fertilität zu restaurieren. Auch Kreuzungen der männlich-sterilen Linien mit normalen Triticale-Sorten wie 'Logo', 'Nagano', 'Nilex' und 'Somtri' waren erfolgreich.

Diskussion

Die *kotschy*-Translokations-Methode, bei der das Genom eines hexaploiden Saatweizen mit einer 1BL.1RS-Weizen-Roggen-Translokation in *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingelagert wird, führt zu männlich-sterilen Linien (MUKAI & TSUNEWAKI 1979). Wie bei anderen Kulturpflanzenarten auch kann man davon ausgehen, dass in der mitochondrialen DNA (mt-DNA) des *kotschy*-Cytoplasmas ein Gen lokalisiert ist, das in Wechselwirkung mit einem Gen auf der DNA des 1BL.1RS-Translokationschromosoms männliche Sterilität hervorruft. Wahrscheinlich liegt das Gen in der Kern-DNA auf dem Roggenarm 1RS. LIU et al. (2011) gelang es, die mt-DNA des *kotschy*-Cytoplasmas zu sequenzieren und mit der mt-DNA des entsprechenden *maintainers* zu vergleichen. Die Autoren fanden, dass sich das mt-DNA-Molekül von *Ae. kotschy* aus 647559 Basenpaaren zusammensetzt. Damit wurde die Grundlage für die Identifizierung des Gens für die männliche Sterilität gelegt.

Die 1BL.1RS-Translokation kann in tetraploiden Durumweizen übertragen werden (FRIEBE et al. 1987). Kreuzt man darüber hinaus *Ae. kotschy*-Cytoplasma in diesen translozierten Durumweizen ein, ist der Pollen der Pflanzen steril (HSAM & ZELLER 1993). In vorliegender Arbeit wurde eine tetraploide 1BL.1RS-Durum-Linie mit diploidem Roggen gekreuzt, Embryonen extrahiert und die F₁-Pflanzen colchiziniert. Aus den Bastardpflanzen entstanden männlich-fertile primäre Triticale-Linien, die später als *maintainer* dienten. Wurde die 1BL.1RS-Durumlinie in *Ae. kotschy*-Cytoplasma eingelagert und ebenfalls mit diploidem Roggen gekreuzt, entstanden nach Colchiziniierung hexaploide Triticale-Linien, die männlich steril waren. Zur Erzeugung von Samen wurden die sterilen Linien mit den männlich-fertilen 1BL.1RS-Triticale-Linien (*maintainer*) als Polleneltern gekreuzt. Das Auftreten haploider Pflanzen war in den verschiedenen Linien unterschiedlich.

In den Nachkommen der Kreuzung der colchizinierten cms-*T. durum*-Linie mit der der 1BL.1RS-Translokation \times Conduct (Mize) der Linie A traten fast ausschließlich diploide Individuen auf (Tabelle 1). Diese Tatsache macht Linie A geeignet für die Herstellung von Einfach-Hybriden. Das Auftreten fast ausschließlich tetraploider Pflanzen in Linie B ist bemerkenswert und kann derzeit nicht erklärt werden. Im Weizen ist ein solches Phänomen bisher nicht beobachtet worden. Der hohe Anteil von über 40% Haploiden macht auch Linie C für die Hybridzüchtung ungeeignet.

In Linie A der Nachkommen aus der Kreuzung der colchizinierten cms-*T. durum*-Linie mit der der 1BL.1RS-Translokation \times Dukato (Raze) lag der Anteil Haploider bei 42% (Tabelle 2). Aufgrund der hohen Anzahl haploider Pflanzen ist diese Linie für die Herstellung von Einfach-Hybriden ungeeignet. Eine zweite Linie (B) wies 0,7%

haploide Individuen auf, während in der Nachkommenschaft zwei weiterer Linien (C und D) überhaupt keine Haploiden auftraten (Tabelle 2). Ähren der letzten drei Linien waren nach Isolierung männlich steril und setzten nach Kreuzung mit dem *maintainer*-Samen an. Sie dürften sich für die Herstellung von Einfach-Hybriden eignen.

Cytologische Untersuchungen der männlich-sterilen Linien, in denen keine oder fast keine haploide Pflanzen auftraten, ergaben, dass einige Individuen in den Mitosezellen vier Satelliten (Sat)-Chromosomen, nämlich die Weizenchromosomen 1B und 6B, besaßen. Das bedeutet, dass auch das die Fertilität restaurierende Gen *Rfv1* in diesen Linien vorhanden sein muss. Da aber sämtliche Linien, in denen keine oder nur ganz wenige Haploide auftraten, männlich-steril waren, muss im Weizen- oder Roggen-Genom dieser Triticale-Linien ein Gen oder Genpaar wirksam sein, das die Wirkung des *Rfv1*-Gens unterdrückt. Mit großer Wahrscheinlichkeit handelt es sich um ein Suppressor-Gen.

Das Fehlen des 1BL.1RS-Translokationschromosoms hat auch zur Folge, dass die Meiose dieser Triticale-Linien völlig normal ablaufen kann. Da ausschließlich bivalente Chromosomenkonfigurationen während der Meiose zu erwarten sind, dürfte die Bildung der Gameten ungestört erfolgen.

Da das Gen *Rfv1* auf dem Weizenchromosom 1B die Fertilität restauriert, kann man zur Herstellung von Einfach-Hybriden jede beliebige Triticale-Sorte als Pollenelter verwenden. Die Untersuchung hat gezeigt, dass sich mit Hilfe der *kotschy*-Translokations-Methode männlich sterile Triticale-Linien herstellen lassen. Die Methode eignet sich zur Herstellung von Einfach-Hybriden.

Danksagung

Wir danken Frau Michaela Oberloher (LfL) für hervorragende Unterstützung bei der Embryokultur.

Literatur

- FRIEBE B, ZELLER FJ, KUNZMANN R, 1987: Transfer of the 1BL/1RS wheat-rye translocation from hexaploid bread wheat to tetraploid durum wheat. *Theor Appl Genet* 74: 423-425. DOI: 10.1007/BF00289815.
- GORAL H, 2002: Production of triticale (\times *Triticosecale* Wittm.) hybrid seeds using the sterilizing cytoplasm of *Triticum timopheevii*. *Cereal Res Commun* 30: 31-38.
- GORAL H, WARZECHA T, STOJALOWSKI S, POJMAY M, KURLETO D, TRABKAA, SPISS L, 2006: Stability of male sterility and fertility restoration in cms-*T. timopheevii*-system in triticale. *Folia Univ Agric Stetin* 247: 55-62.
- HSAM SLK, ZELLER FJ, 1993: Haploid production in durum wheat by the interaction of *Aegilops kotschy* cytoplasm and 1BL/1RS chromosomal interchange. *Theor Appl Genet* 86: 951-954. DOI: 10.1007/BF00211046.
- LIU H, CUI P, ZHAN K, LIN Q, ZHUO G, GUO X, DING F, YANG W, LIU D, HU S, YU J, ZHANG A, 2011: Comparative analysis of mitochondrial genomes between a wheat K-type cytoplasmic male sterility (CMS) line and its maintainer line. *BMC Genomics* 12: 163. DOI: 10.1186/1471-2164-12-163.
- 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.
- STOJALOWSKI S, BOBROWSKA A, HANEK M, MYSKOW B, 2013: The importance of chromosomes from the sixth homeologous group in the restoration of male fertility in winter triticale with *Triticum timopheevii* cytoplasm. *J Appl Genet* 54: 179-184, DOI: 10.1007/s13353-013-0144-2.
- 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^r type cytoplasm and a 1BL-1RS chromosome. *Japan J Breed* 43: 517-524, DOI: 10.1270/jsbbs1951.43.517.
- TSUNEWAKI K, 1964: Genetic studies of a 6 \times -derivative from an 8 \times -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. Biotechnol Agric For* 13: 460-478. Springer Verlag, Berlin. DOI: 10.1007/978-3-662-10933-5_25.
- WILSON J, ROSS W, 1962: Male sterility interaction of *Triticum aestivum* nucleus and *Triticum timopheevii* cytoplasm. *Wheat Inf Serv* 14: 29-30, [<http://www.shigen.nig.ac.jp/wheat/wis/No14/14.html>]; accessed 16 Dec 2014].
- ZELLER FJ, 1973: 1B/1R wheat-rye chromosome substitutions and translocations. In: SEARS ER, STEINITZ SEARS LM (Eds), *Proc 4th Int Wheat Genet Symp*, 6-11 Aug, Columbia, MO, USA, pp. 209-222. *Agric Exp Stn, Coll Agric, Univ Missouri*.

Durum wheat breeding - Frost tolerance and quality

Alisa-Naomi Sieber^{1*}, Carl Friedrich Horst Longin¹, Tobias Würschum¹

Abstract

Durum wheat (*Triticum durum*) is the main source for pasta production, because of its unique kernel character and quality composition. Major production areas are around the Mediterranean Sea, but also in Central Europe, some parts of Australia, the United States and Canada. Especially in Central Europe and North America exists a high interest in autumn sowing to exploit the yield potential of durum wheat. Limitations for this are missing winter durum varieties with good quality, next to the lack of occurrence of regular frost stress across years to select for such varieties.

The semi-controlled test ‘*Weihenstephaner Auswinterungsanlage*’ exposes plants to all weather conditions, but prevents protectable snow coverage by a movable glass lid. Different scorings for frost tolerance based on this semi-controlled test were evaluated and compared with frost tolerance data in the field. Both evaluations showed the complete range of frost damage and revealed the broad breeding potential in the used material. High heritabilities of the semi-controlled test as well as the field allow a reliable selection for frost tolerance. High correlation between the evaluations indicates the possibility to use the semi-controlled test as an indirect selection tool for frost tolerance.

To answer the question whether it is possible to combine frost tolerance and quality in a durum variety, several agronomical traits and quality traits, like vitreosity, were tested and compared. No correlations between frost tolerance and quality traits were found, which give breeders the opportunity to combine these two complexes.

Vitreosity, describes the non-mealy and translucent appearance of a durum wheat kernel. It is associated with semolina yield and quality. In practice it is often observed

that vitreosity became highly reduced after rains before harvest. To test durum wheat for its variation in this trait, kernels were cut and the percentage of vitreosity was visually evaluated. Additionally the influence of moisture was determined and ‘stability of vitreosity’ was introduced as new trait. This revealed vitreosity of a durum wheat variety depends on the potential to form vitreous kernels but also to maintain this vitreosity under the influence of humidity.

The *Weihenstephaner Auswinterungsanlage* is a helpful indirect selection tool for frost tolerance in durum wheat breeding, especially when frost tolerance information from the field is missing. It is possible to combine frost tolerance and quality in durum wheat, which is already shown in varieties like ‘Wintergold’. For the selection of vitreosity, breeders should consider maximum vitreosity and stability of vitreosity, to produce the best quality for pasta production.

Acknowledgments

A.-N. Sieber was financially supported by the Deutsche Forschungsgemeinschaft under Grant ID LO 1816/2-1. We also like to thank Swissmill, Zürich, for the laboratory support in the quality analysis.

References

- LONGIN CFG, SIEBER AN, REIF JC, 2013: Combining frost tolerance, high grain yield and good pasta quality in durum wheat. *Plant Breed* 132: 353-358. DOI: 10.1111/pbr.12064
- SIEBER AN, WÜRSCHUM T, LONGIN CFH, 2014: Evaluation of a semi-controlled test as a selection tool for frost tolerance in durum wheat (*Triticum durum*). *Plant Breed* 133: 465-469. DOI: 10.1111/pbr.12181
- SIEBER AN, WÜRSCHUM T, LONGIN CFH, 2015: Vitreosity, its stability and relationship to protein content in durum wheat. *J Cereal Sci* 61: 71-77. DOI: 10.1016/j.jcs.2014.10.008

¹ State Plant Breeding Institute, University of Hohenheim, Fruwirthstraße 21, 70599 STUTTGART, Germany

* Corresponding author: Alisa-Naomi SIEBER, a.sieber@uni-hohenheim.de



Maislandsorten in Bayern: Historie, Leistungsvermögen und Züchtungsforschung

Bavarian maize landraces: history, agronomic traits and breeding activities

Barbara Eder^{1*}, Bianca Büttner¹, Günther Schweizer¹, Joachim Eder¹

Abstract

Since the discovery of heterosis by G. Shull (1909) and after the development of European hybrids in the 1960s the widespread maize landraces, which grew nearly 500 years in Central Europe, disappeared within a few years. Interest in these landraces is increasing for breeding purposes because of their allelic richness and for organic farming due to their ability to adapt to different environmental conditions. But which landraces were grown in Bavaria, how do they look like, what's their name, which agronomic traits do they have? In order to answer these questions about 200 maize accessions from 18 different collections were multiplied and phenotyped from 2009 onwards. In the material 18 German landraces were found, six from Bavaria. It seems probable that the Bavarian landraces were developed from landraces of North Tyrol, while the landraces from South West Germany were introduced via Switzerland along the River Rhine. Landraces from North Germany seemed to be transferred later to that area from the south. The grain yield of landraces was about 30 to 50% of a recent hybrid. Currently developed open pollinated varieties achieved about 80% of the yield of a hybrid. Landraces are a source of genetic variability, especially with respect to the narrow European flint germplasm pool. New open pollinated varieties can be an alternative in areas with unfavorable environmental conditions.

Keywords

Genetic resources, Germany, open pollinated varieties, yield, *Zea mays*

Einleitung

9000 Jahre wurde Mais in Mittelamerika bereits kultiviert, bevor er nach Europa kam. Es dauerte keine 80 Jahre und Mais war in ganz Europa das Hauptnahrungsmittel der armen Landbevölkerung und stand in jedem Hausgarten. Historische Quellen belegen den Maisanbau für Tirol, Italien und Bayern schon für 1575 (MAYR 1934). Durch

natürliche und bäuerliche Selektion entwickelten sich aus diesen Maispflanzen Landsorten, die sich fast 500 Jahre an ihre Anbauregionen anpassen konnten. Sie wurden mit der Einführung der Hybridsorten binnen kürzester Zeit komplett aus dem Anbau verdrängt. Seit nunmehr ca. 60 Jahren werden auf deutschen Äckern ausschließlich Hybridmaissorten angebaut (BRANDOLINI & BRANDOLINI 2001).

Die Landsorten lagern in Genbanken und werden nicht mehr genutzt. Nur wenige dieser Landsorten gingen in Hybridprogramme ein, so dass ihr vielfältiger genetischer Code eine wertvolle Genressource darstellt. Welche Landsorten, wo in Bayern angebaut wurden und welches Leistungsvermögen sie aufweisen, sollte deshalb in einem historischen Maissortenprojekt der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL) geprüft werden. Parallel dazu wurden neue, offen abblühende Maissorten aus aktuellem Zuchtmaterial entwickelt, ihr Leistungsvermögen wird ebenso dargestellt.

Material und Methoden

200 verschiedene Akzessionen, die an den bayerischen Klimaraum angepasst sind, wurden aus 18 verschiedenen Genbanken zusammengetragen, vermehrt, und 2010 in einigen morphologischen Merkmalen (Blühzeitpunkt, Pflanzenhöhe, Kolbenansatzhöhe) beschrieben. Zwischen 2010 und 2014 wurde mit einem Teil der Akzessionen Leistungsprüfungen auf Kornertrag am Standort Gucking (Parzellengröße 18 m², Behandlung ortsüblich, dreifach wiederholt, randomisiert) durchgeführt. Mehrjährige Ergebnisse werden hier dargestellt. Parallel wurden historische Recherchen durchgeführt, um nachzuweisen, welche Landsorten in Bayern bzw. Deutschland angebaut wurden und auf welchem Weg sie nach Bayern bzw. Deutschland gekommen sind.

Die geprüften Sorten sind offen abblühende Populationen aus aktuellem Zuchtmaterial nach mehreren Selektionsschritten der LfL und anderer Züchter. Die LfL-Populationsorte *OPM 2* wurde beim Bundessortenamt als Erhaltungssorte 'Weihenstephaner 1' zugelassen.

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

* Ansprechpartner: Barbara EDER, Barbara.Eder@LfL.Bayern.de



Maislandsorten

1. Brauner Schindelmeiser
2. Mahndorfer
3. Maleksberger Körnermais
4. Mecklenburger Zaadmais
5. Strenzfelder
6. Rimpau Früher Binder 1,2
7. Petkuser Ferdinand
8. Dachwiger

9. Rheintaler Monsheim
10. Wantzenau

Bayern

11. Caspersmeyers
12. Pautzfelder
13. Chiemgauer
14. Pfarrkirchner Körnermais
15. Rottaler Silomais

Baden-Württemberg

16. Hohenauer Weiße
17. Weißer Kaiserstühler
18. Gelber Badischer Landmais

1. Kemater
2. Pitztaler
3. Unterlander
4. Kundler
5. Oberhuber Martha-Innsbruck
6. Vorarlberger gelb
7. Tiroler Gebirgsmais
8. Rheintaler Ribel (Sz)
9. Sornay (F)

* Erste Zuchtsorten

Abbildung 1: Historische Maissorten in Deutschland und den südlichen Nachbarländern

Figure 1: Maize landraces in Germany and southern neighbouring countries

Ergebnisse und Diskussion

Landsorten in Bayern und Deutschland - Historie

In *Abbildung 1* sind die Landsorten eingetragen, die vor der Einführung der Hybriden in Deutschland angebaut wurden. Insgesamt konnten 18 Landsorten nachgewiesen werden, die dem heutigen Deutschland regional zuzuordnen sind. Es lassen sich drei regionale Gruppen darstellen: die bayerischen, die badischen und die norddeutschen Landsorten.

Für Bayern wurden fünf Landsorten gefunden. Die Sorten 'Chiemgauer', 'Rottaler', 'Pfarrkirchner', 'Hohenauer Weiße' und 'Pautzfelder' bezeichnen eine Region bzw. einen Ort, an dem sie vermehrt angebaut wurden und ihre Anpassung erfuhren. Historische Quellen deuten darauf hin, dass sich die Bayerischen Landsorten aus Tiroler Landsorten entwickelt haben, denn es wird von einem „guten Tiroler Mais, der in Bayern sehr beliebt war“ (MARCHAL 1929) gesprochen. Es ist anzunehmen, dass sie, wie für die Tiroler Landsorten nachgewiesen, seit dem Ende des 16. Jhdt. in Bayern angebaut wurden. Die Sorte 'Caspersmeyer' ist nach ihrem Züchter Robert Caspersmeyer aus Bayreuth benannt. Sie wurde erst später entwickelt und ca. 1929 verbreitet. Ihre

Wurzeln hat diese Sorte in Ungarn, das Korn ist 'dentig' und wurde wahrscheinlich für Silomaiszwecke entwickelt. Der 'Weiße Kaiserstühler' und der 'Gelbe Badische Landmais' gehen mit großer Sicherheit auf Landsorten aus dem Rheintal zurück, welche über Südtirol, Tirol und die Schweiz und dann über das Rheintal nach Baden-Württemberg gekommen waren.

Ein Zitat von Johann Burger, einem Landwirtschaftslehrer aus Klagenfurt, aus dem Jahr 1809 (HAUSHOFER 1957), indem er betont, „wenn der nördliche Deutsche sich von Mais doch überzeugen ließe“, belegt hingegen, dass in Norddeutschland Maislandsorten erst um einiges später angebaut wurden als im Süden. Zudem gehen einige Sorten auf die Tätigkeit der ersten deutschen Pflanzenzüchter Mitte bis Ende des 19. Jhdt. zurück und tragen ihre Namen wie 'Petkuser', 'Ferdinand Rot, Gelb', und 'Rimpau Früher Binder 1 und 2'. Sodass man insgesamt davon ausgehen kann, dass die deutschen Landsorten aus Italien über Tirol und die Schweiz eingewandert waren und erst zwei Jahrhunderte später nach Norddeutschland gebracht wurden.

Die Anpassung der Landsorten erfolgte durch deren Anbau und bäuerliche Selektion. Der Mais wurde dabei immer wieder an seine Anbaugrenzen geführt und erfuhr so seine lokale Adaption und Differenzierung. Für Tirol

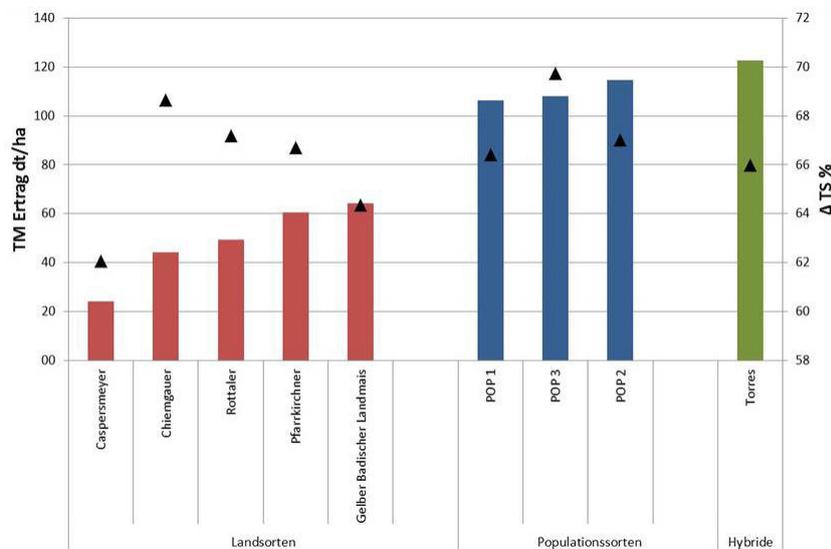


Abbildung 2: Kornerträge (TM) und Trockensubstanz-Gehalte (TS, Δ) von Land- und Populationssorten bei Mais (Grucking, Mittelwerte 2013-2014)

Figure 2: Grain yield (TM) and dry matter (TS, Δ) content of landraces and open pollinated varieties (Grucking, mean 2013-2014)

und die Schweiz ist der Maisanbau bis in 1100 m Höhe nachgewiesen (SCHILPEROORD 2012). Die Mehrheit der Nordeuropäischen Landsorten, so auch die deutschen Landsorten gehört dem 'Flint'-Typ an. Sie haben ein großes, rundes, glasiges Korn und stammen ursprünglich von der Ostküste Nordamerikas. Der Kolben ist lang und schmal, die Spindel überwiegend weiß, die Anzahl der Kornreihen ist eher niedrig und liegt zwischen acht und zehn. Die Kornfarbe variiert zwischen weiß bis sattgelb und rot. Die Differenzierung und genetische Anpassung wurde mehrfach nachgewiesen (REBOURG et al. 2003, PETER 2007, ESCHHOLZ et al. 2009).

Leistungsvermögen von Land- und Populationssorten

Abbildung 2 zeigt das Ertragsvermögen von historischen Land- und neuen Populationssorten im Vergleich zur Hybridsorte 'Torres' aus dem mittelspäten Reifebereich. Es wird schnell deutlich, dass die historischen Landsorten etwa 30-50% des Ertrages der Hybride erzielten. An ihnen ist der Zuchtfortschritt der letzten Jahre schlicht vorbeigegangen und auch nicht mehr aufholbar. Aktuelle Populationssorten hingegen erreichten immerhin bis zu 80% des Ertrages der Hybride.

Landsorten stellen damit keine Sortenalternativen zur Futtermittelerzeugung dar. Sie stellen aber eine wertvolle Genressource dar, die es nicht zu verlieren gilt. In Anbetracht dessen, dass die alleinige *ex situ* Lagerung in Genbanken nicht ausreicht, diese Sorten zu erhalten und der Europäische Flint-Genpool für die Hybridmaiszüchtung nur auf wenige Landsorten zurückgeht (MESSMER et al. 1992), genommen darin nur eine deutsche Landsorte ('Gelber Badischer Landmais') enthalten ist (BÖHM et al. 2014), sollten die Erhaltung und Erforschung dieser Genressourcen eine neue Bedeutung erhalten. Die *in situ* Erhaltung gelingt am

besten durch die Nutzung der Sorten. Ein erwähnenswertes Beispiel ist die Wiedereinführung der alten Landsorte 'Rheintaler Ribel' im Rheintal bei Sennwald, Schweiz. Sie wird landesweit erfolgreich als Gries, Mehl, Ribelmais, Fertigprodukt mit Hackbraten, Bier, Tortilla Chips, etc. vermarktet. Ähnliches wäre auch für die Bayerischen Landsorten denkbar.

Die neuen Populationssorten hingegen bieten durchaus eine Chance für eine breitere Nachfrage sowohl aus dem konventionellen als auch ökologischen Anbau. Im ökologischen Anbau wird nach Nicht-Hybrid-Saatgut gefragt, nicht alle Anbauverbände erlauben alle Züchtungstechniken, sodass Populationssorten hier eine Alternative bieten können. Im konventionellen Anbau bietet sich der Anbau von Populationssorten an, wo das Potential von Hybriden nicht ausgenutzt werden kann, in Lagen also, wo man stärker auf ungünstige wechselnde Umweltbedingungen trifft. Populationssorten können

auch als Zweitfrucht in der Biomasseproduktion Anwendung finden. Trotz der vielversprechenden Ergebnisse sind für die Populationssorten noch einige Fragen zu klären, wie Fusarium-Anfälligkeit, Unkrautverträglichkeit, Zulassungsbedingungen etc..

Züchtungsforschung

Um die wenigen Forschungsaktivitäten rund um Populationssorten bei Mais so effektiv wie möglich zu gestalten, und die Informationen zugänglich zu machen, wurde im Rahmen des Vorhabens eine offene Arbeitsgruppe zum Thema eingerichtet, in der bislang Züchter, Verarbeiter, Anbauverbände, Genbanken, Forschungseinrichtungen aus Italien, Österreich, Schweiz und Deutschland beteiligt sind. Aktuelle Forschungsaktivitäten sind die Erfassung der Varianz von Populationssorten, die Beschreibbarkeit von Populationssorten, Verbesserung von alten Landsorten, Entwicklung von neuen Populationssorten und der Vergleich von verschiedenen Selektionsmethoden.

Danksagung

Dank gilt dem Bayerischen Staatsministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten für die finanzielle Unterstützung des Projekts 'Historische Maissorten in Bayern'.

Literatur

- BÖHM J, SCHIPPRACK W, IRDITA V, UTZ HF, MELCHINGER AE, 2014: Breeding potential of European flint maize landraces evaluated by their testcross performance. *Crop Sci* 54: 1-8. DOI: 10.2135/cropsci2013.12.0837.
- BRANDOLINIA, BRANDOLINIA, 2001: Classification of Italian maize (*Zea mays* L.) germplasm. *Plant Genet Resour Newsl* 126: 1-11.
- ESCHHOLZ TW, STAMP P, PETER R, LEIPNER J, HUND A, 2009: Genetic structure and history of Swiss maize (*Zea mays* L. ssp. *mays*) landraces. *Genet Resour Crop Evol* 57: 71-84. DOI: 10.1007/s10722-009-9452-0.

- HAUSHOFER H, 1957: Burger, Johann. Neue Deutsche Biographie 3: 45 f. (Onlinefassung) [<http://www.deutsche-biographie.de/ppn117641332.html>; accessed 15 Dec 2014].
- MARCHAL L, 1929: Tirols Pflanzenbau. Wiener Landwirtschaftliche Zeitung 79 (14): 123-128.
- MAYR E, 1934: Die Bedeutung der Alpinen Getreidesorten für die Pflanzenzüchtung und Stammesforschung mit besonderer Beschreibung der Landsorten in Nordtirol und Vorarlberg. Z Pflanzenzüchtg 19: 195-228.
- MESSMER MM, MELCHINGER AE, BOPPENMAIER J, BRUNKHAUS-JUNG E, HERRMANN RG, 1992: Relationships among early European maize inbreds: I. Genetic diversity among flint and dent lines revealed by RFLPs. Crop Sci 32: 1301-1309. DOI: 10.2135/cropsci1992.0011183X003200060001x.
- PETER R, 2007: Early vigour of Swiss maize landraces (*Zea mays* L.) in cool environments. Dissertation ETH No. 17398, ETH Zürich, Switzerland. [http://www.kp.ethz.ch/docs/PhD_theses/Diss_Roland; accessed 2 Jan 2015].
- REBOURG C, OUESNARD BG, ELCKER CW, UBREUIL PD, HASTANET MC, HARCOSSET AC, 2003: Maize introduction into Europe: The history reviewed in the light of molecular data. Theor Appl Genet 106: 895-903. DOI: 10.1007/s00122-002-1140-9.
- SCHILPEROORD P, 2012: Beitrag zur Geschichte der Kulturpflanzen. 2. Mais. Schweiz, Nord- und Südtirol. E-Book, Version 1, 16. April 2012 [http://www.cpc-skek.ch/fileadmin/pdf/Publikationen/Kulturpflanzengeschichte_2_Mais.pdf; accessed 2 Jan 2015].
- SHULL GH, 1909: A pure line method of corn breeding. Am Breed Ass Rep (J Hered os-) 5: 51-59. DOI: 10.1093/jhered/os-5.1.51.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage von Saatgut Österreich (<http://www.saatgut-austria.at/-Tagungsarchiv-Tagungsband> 2014) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.

Neue Techniken für die Pflanzenzüchtung und die Folgen ihrer Anwendung in der Praxis

New techniques for plant breeding and the consequences of their application in practice

Alexandra Ribarits^{1*}

Abstract

The regulatory definition of ‘new techniques’ in plant breeding is intensively discussed. The techniques have in common that the commercialised plants largely contain only sequences of plant origin, and that their application does not necessarily leave unequivocally detectable traces in plants and products. As a consequence, the boundaries between genetic modification and traditional plant breeding are blurred. Cisgenesis uses genes and regulatory elements in their native composition within the donor plant. In contrast, intragenesis permits new genetic combinations. Importantly, both are characterised by genetic elements from the same or cross-compatible plant species and the absence of superfluous DNA. Site-directed targeting of the genome is designed to be more precise as compared to conventional mutagenesis and transformation approaches. Agroinfiltration aims at transient expression of a gene/trait avoiding stable insertion of sequences. In RNA-dependent DNA methylation, gene expression is altered by methylation of specific DNA sequences, resulting in heritable epigenetic effects without sequence modification. The final result of reverse breeding does not contain the construct used to suppress meiotic recombination. Also grafting on genetically modified rootstock does not result in alterations to the genome of the scion and its products. Genomic modifications are generally detectable if their site is known but they may be similar to those occurring during traditional plant breeding. The characteristics of ‘new techniques’ frequently seriously hamper the identification of their use in plant breeding based on standard detection methods. Alternatively, traceability may be based on adequate information provided by the breeder.

Keywords

Detection, genetically modified organism, new techniques, plant breeding, traceability

Einleitung

Pflanzenzüchtung strebt nach einer laufenden Verbesserung der Eigenschaften von Pflanzen, wodurch agronomische

Vorteile (Ertrag, Resistenzen) oder Qualitätsfortschritte (Ernährung, Verarbeitung) erzielt werden sollen. Zugrunde liegen genetische Veränderungen, die im Laufe des Züchtungsprozesses entstehen. Traditionell werden diese vor allem durch Kreuzungs- und Mutationszüchtung erreicht. Hinter dem Begriff „Neue Techniken“ verbergen sich eine Vielzahl von unterschiedlichen Ansätzen, die die bisherigen Möglichkeiten erweitern und auf eine raschere oder präzisere Züchtung abzielen (LUSSER et al. 2012). Sie setzen größtenteils Methoden wie für die Herstellung von gentechnisch veränderten Organismen (GVO) ein, arbeiten aber andererseits mit dem Genpool der traditionellen Züchtung bzw. dienen der gezielten Veränderung pflanzeneigener Gene (HARTUNG und SCHIEMANN 2014). Stark beschleunigt wurde ihre Entwicklung durch die technischen Fortschritte der letzten Jahre sowohl in der Pflanzenzüchtung als auch in der Biotechnologie, z.B. in der Pflanzentransformation oder im Konstruktdesign. Während laufend neue Konzepte vorgestellt werden, wird die Zuordnung dieser Techniken zum regulatorischen Rahmen für GMO bzw. jenem für herkömmliche Züchtung auf der Ebene der Europäischen Union (EU) als auch international seit einigen Jahren diskutiert (PODEVIN et al. 2012, LUSSER und DAVIES 2013, HARTUNG und SCHIEMANN 2014, HUNTER 2014). Über die Einordnung der Techniken innerhalb der bestehenden Regelungen und damit die Konsequenzen für die Zulassung der mit ihrer Hilfe gezüchteten Pflanzen wurde bisher noch nicht entschieden.

Aus Züchterperspektive sind die neuen Techniken jedenfalls vielversprechend. So können Gene für neue Eigenschaften ganz gezielt und damit ohne den bei herkömmlicher Kreuzung unvermeidlichen linkage drag in die Pflanze eingebracht werden. Damit erspart sich der Züchter langwierige Rückkreuzungen, was besonders bei Pflanzen mit langen Generationszeiten, wie z.B. Bäumen, zu einem erheblichen Zeitgewinn führt. Nicht zuletzt können damit auch die ursprünglichen Eigenschaften einer Sorte unverändert erhalten werden während ein weiteres Merkmal hinzugefügt wird, beispielsweise eine Krankheitsresistenz. Techniken, die zu einer gezielten, sequenzspezifischen Beeinflussung von Eigenschaften in einer Pflanze führen (ortsgerichtete Genomveränderung und RNA-abhängige DNA Methylierung) werden besonders intensiv beforscht.

¹ Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH (AGES), Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Spargelfeldstraße 191, 1220 WIEN, Österreich

* Ansprechpartner: Alexandra RIBARITS, alexandra.ribarits@ages.at

Sie haben einen wesentlichen Vorteil gegenüber der herkömmlichen Mutationszüchtung, da Gene ganz gezielt beeinflusst werden können. Gerade diese Techniken führen jedoch zu Pflanzen und Produkten, die sich von jenen, die aus traditionellen Züchtungsmethoden hervorgehen, nicht nachweisbar unterscheiden (BREYER et al. 2009, PAUWELS et al. 2014).

In der EU gibt es klare regulatorische Vorgaben für gentechnisch veränderte Pflanzen (SCHAUZU 2013). Grundsätzlich durchlaufen sie alle einen Zulassungsprozess, bevor sie für den Anbau bzw. die Verwendung als Lebensmittel und Futtermittel auf den Markt gebracht werden dürfen. Der Antragsteller muss dazu nicht nur Daten für eine umfassende Risikobewertung und Referenzmaterial bereitstellen, sondern auch eine für Routineanalysen geeignete Methode vorschlagen, die es erlaubt, einen GVO eindeutig zu identifizieren. Standardmethoden weisen Veränderungen auf der DNA- oder Proteinebene nach. Am häufigsten wird die Polymerase-Kettenreaktion (PCR) eingesetzt, mit deren Hilfe die Veränderung in der genomischen DNA der Pflanze direkt bestimmt werden kann. Nach einer Validierung sind Routineanalysen gemäß den Vorgaben für alle zugelassenen GV-Pflanzen eindeutig durchführbar. Im Prüflabor sind damit Nachweis, Quantifizierung und Rückverfolgbarkeit des in Verkehr gebrachten GVO möglich, und die rechtlichen Vorgaben für GVO können eingehalten werden.

Bei bisherigen GV-Pflanzen wurden die in einem „Konstrukt“ kombinierten DNA-Abschnitte im Transformationsprozess an einer zufälligen Stelle im Genom eingebaut. Daher liegt eine unverwechselbare Kombination zwischen dem pflanzlichen Genom und der Fremd-DNA vor, aufgrund derer Erkennungssequenzen (*Primer*) für einen eindeutigen PCR-Nachweis hergestellt werden können. In der Praxis ergeben sich bei der Identifikation von durch „neue Techniken“ erzeugten Pflanzen technische Herausforderungen abseits ihrer Definition als GVO. Auch wenn bei ihrer Herstellung gentechnische Methoden eingesetzt werden, können Pflanzen entstehen, die sich in ihren genomischen Merkmalen nicht von aus „natürlichen“ Prozessen oder „herkömmlichen Züchtungstechniken“ hervorgegangene unterscheiden (HARTUNG und SCHIEMANN 2014). Insgesamt haben die „neuen Techniken“ für die Pflanzenzüchtung als gemeinsames Merkmal, dass sich aufgrund ihrer Eigenschaften die Grenzen zwischen GV-Pflanzen und traditioneller Pflanzenzüchtung nicht mehr eindeutig ziehen lassen. Daher ergeben sich aus ihrer Anwendung auch Folgen für ihre Abgrenzbarkeit durch Nachweis, Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung.

Die Analyse der „neuen Techniken“ wurde ausgehend von umfassenden Literaturrecherchen zum Stand von Wissenschaft und Technik durchgeführt. Dazu wurden wissenschaftliche Publikationen in Fachzeitschriften gesammelt; zu Fragen der Anwendungen wurden auch auf Informationen im Internet zugegriffen. Diskutiert werden Cisgenetik bzw. Intragenetik, ortsgerichtete Genomveränderung und RNA-abhängige DNA Methylierung, *Reverse Breeding*, Pfropfen auf GV-Unterlage und Agroinfiltration/Agroinokulation (siehe RIBARITS et al. 2012, 2013).

Grüne Gentechnik/Transgenetik

Gemäß der Definition im österreichischen Gentechnikgesetz ist ein gentechnisch veränderter Organismus (GVO) „unter natürlichen Bedingungen durch Kreuzen oder natürliche Rekombination oder andere herkömmliche Züchtungstechniken“ (Gentechnik Gesetz 1994, GTG § 4 Abs. 3) nicht herstellbar. Tatsächlich werden in der Transgenetik genetische Elemente aus beliebigen Organismen verwendet, die zumeist nicht aus dem natürlich einkreuzbaren Genpool stammen und frei kombiniert werden. Sie können daher zu Eigenschaften führen, die in der Natur in einer Pflanze in dieser Form nicht vorkommen. Bekannte Beispiele sind Herbizidtoleranzen oder Insektenresistenzen, für die zumeist Elemente aus nichtpflanzlichen Organismen verwendet wurden. Weitere wesentliche Merkmale der Standardmethoden der Transgenetik, wie beispielsweise Agrobakterien-vermittelter Gentransfer oder die Genkanone, sind der Einbau der Information an einer zufälligen Stelle im Genom und der Einsatz von Markergenen (z.B. Antibiotikaresistenzmarker) zur Selektion während der Herstellung der Pflanzen. Die Erweiterung des pflanzlichen Genpools, die unerwünschten Nebeneffekte des ungezielten Einbaus (z.B. Änderungen der Expression, Genunterbrechungen oder Bildung von neuen Proteinen) und die Verwendung von Resistenzmarkern werden am häufigsten in der Diskussion um transgene Pflanzen genannt. Die in den letzten Jahren entwickelten Konzepte sollen nicht zuletzt die Nachteile, die mit diesen Merkmalen verbunden sein können, vermeiden.

Cisgenetik

Die Cisgenetik ist durch das Einbringen eines Gens aus einer kreuzbaren Art definiert (SCHOUTEN et al. 2006, HOLME et al. 2013). Der Genpool ist damit identisch mit jenem, der der traditionellen Pflanzenzüchtung zur Verfügung steht. Die Methoden, mit denen das Gen eingebracht wird, sind jedoch Techniken der Transgenetik, in erster Linie die Agrobakterien-vermittelte Transformation. Damit ist der Ort des Einbringens der genetischen Information im Vorfeld nicht bestimmbar. Definitionsgemäß gibt es neben der Herkunft des Gens weitere wichtige Kriterien, damit von Cisgenetik gesprochen werden kann. So muss das Gen mit allen nativen Sequenzen (Exons, Introns, Promoter- bzw. Terminatorregion) in die Pflanze eingebracht werden und es dürfen keine fremden Sequenzen wie beispielsweise Bakteriensequenzen oder Selektionsmarker aus dem Transformationsprozess vorliegen. Die Cisgenetik eignet sich gut für das Einbringen von monogen bedingten Merkmalen.

Sie kann dabei helfen, die Züchtung zu beschleunigen, da nur das Zielgen ohne weitere unerwünschte Eigenschaften nach der Transformation in der Pflanze vorliegt. Langwierige Rückkreuzungen sind damit nicht erforderlich und der ursprüngliche Sortencharakter bleibt erhalten. Beispiele sind Schorf- bzw. Feuerbrandresistenz beim Apfel, Resistenz gegen Kraut- und Knollenfäule bei der Kartoffel oder gegen Grauschimmel bei der Erdbeere, oder auch Qualitätseigenschaften der Futtergerste, die zu ihrer besseren Verwertung bei der Verfütterung führen.

Intragenetik

Die Intragenetik bedient sich desselben Genpools wie die Cisgenetik, jedoch können die Elemente beliebig kombiniert werden (ROMMENS 2007, HOLME et al. 2013). Im Gegensatz zur Cisgenetik ist es damit möglich, Elemente aus unterschiedlichen (jedoch immer natürlich kreuzbaren) Pflanzen zu verwenden, und diese in jeder gewünschten Ausrichtung einzusetzen. Damit wird auch ein Abschalten von Genen (*gene silencing*) möglich. Mit dieser Technik können Gene aber auch verstärkt werden, indem z.B. ein geeigneter Promotor vorgeschaltet wird. Aktuelle Forschungs- und Entwicklungsbereiche für die Intragenetik sind Transport- und Lagereigenschaften von Äpfeln oder die Qualität von frittierten Kartoffelerzeugnissen.

Ortsgerichtete Genom-Veränderungen

Mutationen im Genom entstehen aufgrund äußerlicher Einflüsse, die natürlichen oder im Rahmen der Mutationszüchtung technischen Ursprungs sein können. In beiden Fällen sind aufwändige Selektionsprozesse notwendig, um Pflanzen mit der gewünschten Eigenschaft zu erkennen, da die ungerichteten Genom-Veränderungen an zufälligen Stellen im Genom auftreten.

Die Anwendung einer Reihe von zu den „neuen Techniken“ zählenden Ansätzen (z.B. Zink-Finger-Nukleasen, Oligonukleotide, CRISPR/Cas-System) führt zu erheblichen Vorteilen gegenüber herkömmlichen Mutations- und Transformationstechniken (BREYER et al. 2009, HARTUNG und SCHIEMANN 2014, PAUWELS et al. 2014). Alle diese Techniken zielen darauf ab, Veränderungen im Genom (Austausch von Nukleotiden, Insertionen in unterschiedlicher Länge, Deletionen) gezielt zu verursachen und dadurch gewünschte Eigenschaften in der Pflanze präzise hervorzurufen. Voraussetzung ist die Kenntnis der Funktion einer bestimmten Sequenz im Genom. Nach der vorübergehenden oder stabilen Einbringung von auslösenden Molekülen erfolgt die Veränderung am Genom durch pflanzeigene Reparaturmechanismen. Anschließend werden die Wirkmoleküle in der Pflanze abgebaut oder nach erfolgreicher Anwendung herausgekreuzt.

Neben der gezielten Abschaltung von Genen oder der Entfernung bzw. dem Austausch von DNA-Abschnitten gibt es auch die Möglichkeit der sequenzgenauen Transformation von Pflanzen. Das ist ein erheblicher Fortschritt gegenüber herkömmlichen Methoden der Transgenetik, die DNA zufällig in das Genom einfügen.

RNA-abhängige DNA Methylierung

Durch diese Technik können Gene gezielt blockiert werden, indem ihre Promotoren durch kurze RNA-Stücke stillgelegt werden (Methylierung). Die DNA-Sequenz bleibt unverändert, es kommt jedoch zu einer Ausprägung neuer Eigenschaften in der Pflanze, die auch vererbt werden. Dieser epigenetische Vorgang findet auch in der Natur statt. Ziel ist es, Vorgänge in der Pflanze gezielt zu beeinflussen, wodurch beispielsweise männliche Sterilität oder eine veränderte Stärkezusammensetzung in der Kartoffelknolle erreicht werden kann.

Pfropfen auf gentechnisch veränderter Unterlage

Die Unterlage ist ein Wurzelstock einer herkömmlich transgenen Pflanze, während das Edelreis nicht gentechnisch verändert ist; ansonsten entspricht der Vorgang der bekannten Methode des Veredelns. Die veredelte Pflanze besteht damit aus zwei Teilen (chimäre Pflanze) und profitiert entweder direkt von den Eigenschaften des gentechnisch veränderten Wurzelstocks (z.B. Resistenzen, Bewurzelung) oder indirekt über Moleküle und Stoffwechselprodukte, die von der Unterlage in das Edelreis transportiert werden. Da Produkte (z.B. Früchte) im Allgemeinen vom oberen Teil der Pflanze geerntet werden, sind diese nicht gentechnisch verändert. Im Edelreis und in den Produkten sind auch keine Spuren der gentechnischen Veränderung nachweisbar. Diese Technik wird vor allem im Obst-, Wein- und Gemüsebau eingesetzt.

Reverse Breeding (Umkehrzüchtung)

Aus einem Elitehybriden können die Elternlinien völlig reinerbig regeneriert und damit auch der ursprüngliche Hybrid rekonstruiert werden. Dieses relativ aufwändige Verfahren besteht aus der Auswahl eines Elitehybriden, der Unterdrückung der meiotischen Rekombination durch eine stabile Transformation, durch Pfropfen oder chemisch, einer Produktion von Doppelhaploiden mittels Mikrosporenkultur und einer Auswahl nicht transgener Pflanzen („negative Segreganten“). Eine transgene Pflanze liegt nur im Zwischenschritt vor, während die ausgewählten Pflanzen den Ausgangspflanzen entsprechen und keine fremde DNA enthalten.

Agroinfiltration/Agroinokulation

Im Gegensatz zur Standardmethode der Agrobakterienvermittelten stabilen Transformation von Pflanzen ist das Ziel bei dieser Technik nicht die dauerhafte Integration eines Konstrukts in das Genom, sondern die vorübergehende Erzeugung eines Genprodukts. Anwendungsbeispiele sind die Erforschung des Verhaltens eines Genkonstrukts in einer Pflanze oder die Erzeugung von Proteinen für medizinische oder kosmetische Zwecke (CHEN et al. 2013).

Diskussion

Viele transgene Pflanzen der ersten Generation enthalten eindeutig identifizierbare und ähnliche Sequenzabschnitte. Weit verbreitete Beispiele sind der 35S-Promotor aus dem Blumenkohlmosaikvirus und der Nopaline Synthase (NOS)-Terminator aus *Agrobacterium tumefaciens* – Elemente, die für ein unspezifisches *Screening* von transgenen Pflanzen im Probenmaterial genutzt werden können (BROEDERS et al. 2012). Für einige Zeit wurde so der Großteil der gentechnisch veränderten Pflanzen erfasst. Die Weiterentwicklung der Konstrukte führt jedoch dazu, dass für die Erfassung einer gentechnischen Veränderung immer häufiger die Anwendung eines für diese maßgeschneiderten Nachweises notwendig wird. Für die Identifizierung einer gentechnisch veränderten Pflanze ist die Kenntnis der Sequenz der eingebrachten Elemente essenziell, und unter dieser Voraussetzung kann ein Konstrukt-spezifischer Nachweis

durchgeführt werden. Die Pflanze ist außerdem durch den Ort im Genom, wo sich diese Elemente befinden, definiert. Diese eindeutig identifizierbare Schnittstelle zwischen genomischer Sequenz und der Sequenz des Konstrukts kann für einen „Event-spezifischen“ Nachweis verwendet werden und macht die vorliegende gentechnisch veränderte Pflanze unverwechselbar. Im Gegensatz zur bisherigen Transgenetik hinterlässt die Anwendung der „neuen Techniken“ nicht unbedingt eine nachweisbare Veränderung im Genom, womit Auswirkungen auf Nachweis und Rückverfolgbarkeit verbunden sind.

Reverse Breeding und die RNA-abhängige DNA Methylierung nutzen transgene Pflanzen nur in einem Zwischenschritt. Diese „intermediären GVO“ sind so wie herkömmliche transgene Pflanzen nachweisbar. Ähnlich verhält es sich mit dem gentechnisch veränderten Teil einer veredelten Pflanze – in diesem ist die gentechnische Veränderung nachweisbar, sofern die Probe aus diesem entnommen wurde. Bei den mit den genannten Techniken erzeugten, zum Anbau vorgesehenen Pflanzen bzw. ihren Produkten kann keine Veränderung im Genom nachgewiesen werden. Obwohl ein verändertes Methylierungsmuster grundsätzlich darstellbar ist, kann seine Ursache nach derzeitigem Wissensstand nicht festgestellt werden, da der Vorgang auch in der Natur stattfindet. Ähnliches gilt auch für den Ursprung von eventuell aus dem gentechnisch veränderten Wurzelstock in das Edelreis transportierten Molekülen.

Sowohl cisgene als auch intragene Pflanzen können bei Kenntnis der Veränderung von herkömmlich gezüchteten Pflanzen unterschieden werden. Cisgenetik und Intragenetik sind Techniken, bei denen mit den Standardmethoden der Transgenetik gearbeitet wird. Somit kommt es zu einer Einfügung der neuen genetischen Information an einer zufälligen Stelle im pflanzlichen Genom. Da sich daraus eine unverwechselbare Kombination aus dem pflanzlichen Genom und der eingebrachten DNA - ein „Event“ - ergibt, können diese Pflanzen ebenso wie transgene Pflanzen nachgewiesen, identifiziert und im Bedarfsfall quantifiziert werden. Dazu ist die Kenntnis über die erfolgte Veränderung und die Stelle im Genom notwendig, da die Unterscheidung einer cisgenen zu einer herkömmlich gezüchteten Pflanze im Normalfall nur anhand des genomischen Kontexts erfolgen kann. Ein nur auf dem Gen basierender Nachweis ist nicht möglich, da das „Konstrukt“ im Fall einer cisgenen Pflanze laut Definition ein unverändertes Gen darstellt. Im Fall der Intragenetik kann neben dem Event-spezifischen Nachweis auch ein Konstrukt-spezifischer Nachweis entwickelt werden, da die genetischen Elemente aufgrund der Neukombination in einer vorher in der Natur in dieser Form nicht vorkommenden Zusammensetzung vorliegen. Zusätzlich ist der Event-spezifische Nachweis aufgrund der zufälligen und damit kennzeichnenden Integration in das Genom eindeutig möglich.

Es ist zu erwarten, dass der Nachweis erheblich erschwert sein kann, falls Cisgenetik mit einer Technik der ortsgerichteten Genomveränderung kombiniert wird. In diesem Fall lässt sich die Nachweismöglichkeit erst beurteilen, wenn genaue Sequenzinformationen vorliegen. Grundsätzlich sind auch kleine Veränderungen im Genom nachweisbar,

wenn bekannt ist, welche Sequenz verändert wurde. Jedoch sind diese nicht von Pflanzen unterscheidbar, die mit Hilfe herkömmlicher Mutationsmethoden erzeugt wurden oder in denen die Mutation aufgrund natürlicher Einflüsse entstanden ist. Eine eindeutige Identifizierung ist damit nicht oder nur sehr eingeschränkt möglich - und nur unter der Voraussetzung, dass die dazu erforderlichen Informationen weitergegeben werden.

In manchen Fällen liegen die Effektormoleküle nur für einen begrenzten Zeitraum vor - das ist z.B. der Fall bei der Agroinokulation/Agroinfiltration. Danach liegt die Pflanze wieder im ursprünglichen, unveränderten Zustand vor. Ähnliches gilt für jene Techniken der ortsgerichteten Mutagenese, wo bis auf die gewünschte Mutation, die nicht eindeutig einer bestimmten Technik zugeordnet werden kann, keine Veränderung in der Pflanze vorliegt.

Alle „neuen Techniken“ führen zu Veränderungen in der Pflanze, die jedoch nicht zwingend im Genom erkennbar sind. Sofern Informationen über die veränderten Sequenzen vorliegen, ist ein Nachweis technisch möglich. Auch kleine Sequenzunterschiede bis hin zu Punktmutationen können nachgewiesen werden. Nach heutigem Kenntnisstand ist es jedoch nicht möglich, den Ursprung dieser Veränderungen zu bestimmen. Bei all jenen Techniken, die am Ende des Entwicklungsprozesses keine Spuren im Genom hinterlassen, ist der Nachweis mit derzeit bekannten Methoden schwierig und die Bestimmung der Ursache nicht möglich. Auch eine zweifelsfreie Quantifizierung kann aus diesen Gründen nicht durchgeführt werden.

Bei allen Pflanzen, wo keine eindeutige Identifikation und damit eine Zuordnung zur Anwendung „neuer Techniken“ möglich sind, kann eine eventuelle Kennzeichnung nur aufgrund einer Bekanntgabe der Verwendung einer Technik (z.B. im Zuge der Sortenzulassung) und damit unabhängig von Nachweis oder Quantifizierbarkeit durchgeführt werden. Eine nachträgliche eindeutige Bestimmung und Rückverfolgbarkeit ist mit derzeitigen technischen Mitteln nicht möglich.

Da sich das Wissen über die „neuen Techniken“ ebenso wie ihr Spektrum durch intensive Forschung ständig vermehrt, ist die Entwicklung weiter zu beobachten.

Danksagung

Die Arbeiten zu „Neue Techniken in der Pflanzenzüchtung“ entstanden im Auftrag und mit finanzieller Unterstützung des Bundesministeriums für Gesundheit und sind unter http://www.bmg.gv.at/home/Schwerpunkte/Gentechnik/Fachinformation_Gruene_Gentechnik/ abrufbar.

Literatur

- BREYER D, HERMAN P, BRANDENBURGER A, GHEYSEN G, RE-MAUTE, SOUMILLION P, VAN DOORSSELAERE J, CUSTERS R, PAUWELS K, SNEYERS M, REHEUL D, 2009: Genetic modification through oligonucleotide-mediated mutagenesis. A GMO regulatory challenge? *Env Biosafety Res* 8: 57-64. DOI: 10.1051/ebr/2009007.
- BROEDERS SRM, DE KEERSMAECKER SCJ, ROOSENS NHC, 2012: How to deal with the upcoming challenges in GMO detection in food and feed. *J Biomed Biotechnol* 2012: 402418. DOI: 10.1155/2012/402418.

- CHEN Q, LAI H, HURTADO J, STAHNKE J, LEUZINGER K, DENT M, 2013: Agroinfiltration as an effective and scalable strategy of gene delivery for production of pharmaceutical proteins. *Adv Tech Biol Med* 1: 103. DOI: 10.4172/atbm.1000103.
- HARTUNG F, SCHIEMANN J, 2014: Precise plant breeding using new genome editing techniques: opportunities, safety and regulation in the EU. *Plant J* 78: 742-752. DOI: 10.1111/tpj.12413.
- HOLME IBK, WENDT T, HOLM PB, 2013: Intragenesis and cisgenesis as alternatives to transgenic crop development. *Plant Biotech J* 11: 395-407. DOI: 10.1111/pbi.12055.
- HUNTER P, 2014: "Genetically Modified Lite" placates public but not activists. *EMBO Rep* 15: 138-141. DOI: 10.1002/embr.201338365.
- LUSSER M, PARISI C, PLAN D, RODRÍGUEZ-CEREZO E, 2012: Deployment of new biotechnologies in plant breeding. *Nat Biotechnol* 30: 231-239. DOI: 10.1038/nbt.2142.
- LUSSER M, DAVIES HV, 2013: Comparative regulatory approaches for groups of new plant breeding techniques. *Nat Biotechnol* 30: 437-446. DOI: 10.1016/j.nbt.2013.02.004.
- PAUWELS K, PODEVIN N, BREYER N, CARROLL D, HERMAN P, 2014: Engineering nucleases for gene targeting: safety and regulatory considerations. *Nat Biotechnol* 31: 18-27. DOI: 10.1016/j.nbt.2013.07.001.
- PODEVIN N, DEVOS Y, DAVIES HV, NIELSEN KM, 2012: Transgenic or not? No simple answer! New biotechnology-based plant breeding techniques and the regulatory landscape. *EMBO Rep* 13: 1057-1061. DOI: 10.1038/embor.2012.168.
- RIBARITS A, STEPANEK W, PETERSEIL V, WÖGERBAUER M, MECHTLER K, HOCHEGGER R, HARTMANN J, SÖLLINGER J, WIDHALM I, BRÜLLER W, LEONHARDT C, 2012: Cisgenesis. A report on the practical consequences of the application of novel techniques in plant breeding. Bundesministerium für Gesundheit, Wien.
- RIBARITS A, STEPANEK W, WÖGERBAUER M, PETERSEIL V, LUFTENSTEINER H, TOPITSCHNIG C, MECHTLER K, STEFFEK R, WIDHALM I, BRÜLLER W, LEONHARDT C, 2013: New plant breeding techniques. RNA-dependent methylation, Reverse Breeding, Grafting. Bundesministerium für Gesundheit, Wien.
- ROMMENS CM, 2007: Intragenic crop improvement: combining the benefits of traditional breeding and genetic engineering. *J Agric Food Chem* 55: 4281-4288. DOI: 10.1021/jf0706631.
- SCHAUZU M, 2013: The European Union's regulatory framework on genetically modified organisms and derived foods and feeds. *Adv Genet Eng* 2: 109. DOI: 10.4172/2169-0111.1000109.
- SCHOUTEN HJ, KRENS FA, JACOBSEN E, 2006: Cisgenic plants are similar to traditionally bred plants. *EMBO Rep* 7: 750-753. DOI: 10.1038/sj.embor.7400769.



Verbesserung des Resistenzniveaus der Weißen Lupine gegen Anthraknose

Improving resistance of white lupin against anthracnose

Irene Jacob^{1*}, Manuel Deyerler², Ulf Feuerstein³, Herbert Geißendörfer²,
Markus Heinz², Dörte Schweneker³, Peer Urbatzka¹

Abstract

Anthraknose, a fungal disease of lupins caused by *Colletotrichum lupini*, can result in severe loss of yield up to complete failure. Since its first occurrence in Germany in the 1990s, it has led to the drastic decline in white lupin (*Lupinus albus* L.) acreage. At present, cultivation of this protein crop has hardly any relevance because of the lack of resistant varieties. Breeding lines were tested in three years' field trials with respect to their agronomic traits and special focus on their resistance to anthracnose. Results showed an increased resistance level combined with stable grain yields of the resistant lines.

Keywords

Colletotrichum lupini, legumes, *Lupinus albus*, protein, resistance breeding

Einleitung

Als Körnerleguminose zeichnet sich die Weiße Lupine (*Lupinus albus* L.) nicht nur durch ihre Eigenschaft Luftstickstoff zu fixieren aus, sondern auch durch ihren hohen Rohproteingehalt. Weiterhin ist ihre Eiweißzusammensetzung als besonders wertvoll einzustufen. Einsatzmöglichkeiten bestünden in der Tierernährung sowie als Rohstoff in der Nahrungsmittelherstellung.

Tabelle 1: Beschreibung der Versuchsstandorte 2012-2014

Table 1: Description of the trial sites 2012-2014

Standort	Hohenkammer (Bayern)	Triesdorf (Bayern)	Hof Steinke (Niedersachsen)	Leutewitz (Sachsen)	Ven-Zelderheide (Niederlande)	Boldebuck (Mecklenburg- Vorpommern)
Höhenlage (m NN)	480	460	40	200	10	10
Mittlere Jahrestemperatur (°C)	8,9	8,6	9,1	9,6	11,2	7,6
Mittlerer Jahresniederschlag (mm)	750-800	632	665	588	857	586
Bodenart	sL	IS/sL	IS/sL	L	IS	IS
pH	6,5	6,9	6,1-6,2	6,7-6,9	5,8	6,6
Bewirtschaftung	ökol.	konv.	konv.	konv.	konv.	konv.
Prüfjahre	2012-2014	2012-2014	2012-2014	2012-2014	2013-2014	2014

Seit den 1990er Jahren brach der Anbau dieser Kulturart in Deutschland jedoch völlig zusammen. Grund dafür ist das Auftreten der samenbürtigen Pilzkrankheit Anthraknose. Diese wird durch *Colletotrichum lupini* hervorgerufen. Da Maßnahmen wie Saatgutbeizung und Fungizidbehandlungen keine ausreichende Bekämpfung darstellen, ist die Züchtung resistenter Sorten die aussichtsreichste Strategie gegen die Krankheit. Derzeit fehlen gegen Anthraknose resistente Sorten und es findet kein nennenswerter Anbau statt.

In den hier vorgestellten Untersuchungen wurden Zuchtlinien der Saatzucht Triesdorf hinsichtlich ihrer agronomischen Eigenschaften, aber speziell in Bezug auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Anthraknose geprüft. Das Material geht auf Kreuzungen zwischen Genbankakzessionen, welche hinsichtlich ihrer Resistenz gegen Anthraknose geprüft wurden (LANDWIRTSCHAFTLICHE LEHRANSTALTEN TRIESDORF 2003), und Sorten zurück.

Material und Methoden

In den Jahren 2012 bis 2014 wurden an vier bis sechs ökologisch bzw. konventionell bewirtschafteten Standorten (Tabelle 1) Feldversuche als Blockanlage mit vier Wiederholungen angelegt.

Es wurden insgesamt 20 von der Saatzucht Triesdorf entwickelte Zuchtlinien zusammen mit den beiden Verrechnungssorten 'Amiga' und 'Feodora' untersucht. Basierend

auf den Vorjahresergebnissen wurde die Auswahl der zu prüfenden Linien angepasst. Die Aussaat der Versuche fand zwischen Mitte März und Mitte April statt. Die Ernte erfolgte zwischen Ende August und Anfang Oktober. Die Bonituren der agronomischen Eigenschaften wurden nach den Richtlini-

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Lange Point 12, 85354 FREISING, Deutschland

² Landwirtschaftliche Lehranstalten Triesdorf, Markgrafenstraße 12, 91746 WEIDENBACH, Deutschland

³ Deutsche Saatveredelung AG, Steimker Weg 7, 27330 ASENDORF, Deutschland

* Ansprechpartner: Irene JACOB, Irene.Jacob@LfL.Bayern.de

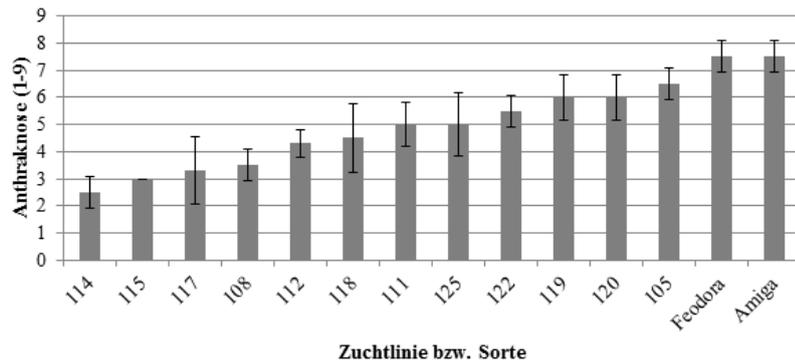


Abbildung 1: Befall mit Anthraknose am Standort Leutewitz 2013 (Mittelwert + Standardabweichung; Boniturnoten 1-9: 1 = kein Befall, 9 = starker Befall).

Figure 1: Infestation with anthracnose in Leutewitz 2013 (means with standard deviation; scores 1-9: 1 = no infestation, 9 = severe infestation).

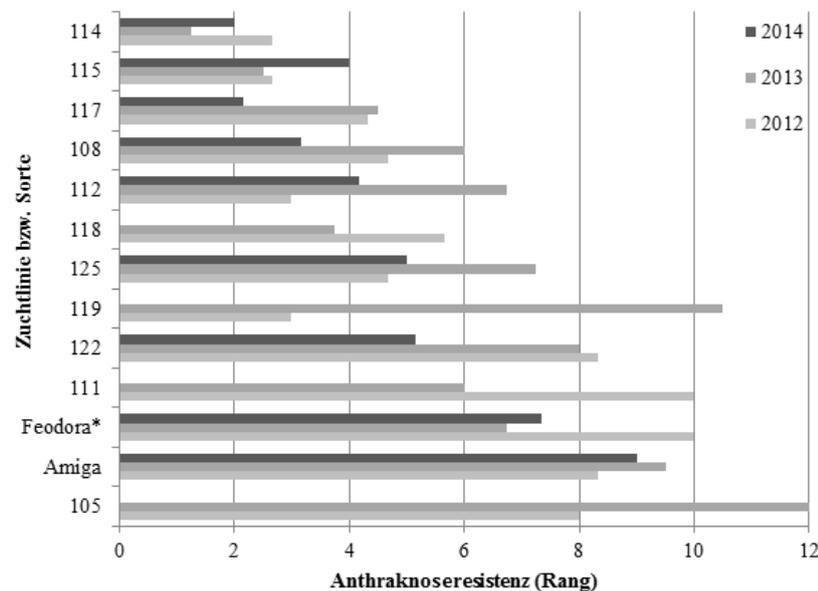


Abbildung 2: Anthraknoseresistenz der zwei- und dreijährig geprüften Zuchtstämme und Verrechnungssorten 2012-2014 (13 Umwelten; * Feodora 2012: zwei Standorte, in Hohenkammer 14 Tage später gesät).

Figure 2: Resistance against anthracnose, two and three year tested breeding lines and varieties 2012-2014 (13 test sites; * Feodora 2012: two sites, sowing 14 days later in Hohenkammer).

en des BUNDESSORTENAMT (2000) durchgeführt. Die Ergebnisse des Kornertrages wurden mit SAS 9.2 (SAS Institute, Cary, NC) verrechnet. Die Ertragsresultate der Standorte Triesdorf bzw. Ven-Zelderheide aus den Jahren 2012 bzw. 2013 waren nicht auswertbar.

Ergebnisse und Diskussion

In den Prüfjahren 2012 bis 2014 herrschte an den Versuchstandorten jeweils ein unterschiedlich starker Befallsdruck mit Anthraknose. Im Versuchsmittel am stärksten befallen waren in 2012 und 2013 Hohenkammer (Boniturnote 6,5 bzw. 5,8) und in 2014 Hof Steinke (4,8). Am Standort Leutewitz trat 2013 ein starker Befall mit gleichzeitig sehr guter Differenzierung auf, wobei alle Zuchtlinien gegenüber den beiden Verrechnungssorten 'Amiga' und

'Feodora' eine höhere Resistenz aufwiesen (Abbildung 1). Auch die Auswertung der Daten über drei Versuchsjahre zeigte bei den meisten geprüften Zuchtlinien eine verbesserte Anthraknoseresistenz gegenüber den Vergleichssorten (Abbildung 2).

Das verbesserte Resistenzniveau wirkt sich positiv auf die Ertragsleistung aus (Tabelle 2). Alle Zuchtlinien erzielten gegenüber 'Amiga' und 'Feodora' statistisch absicherbar höhere Kornerträge. Die Linie 114, welche über alle Standorte und Jahre eine hohe Resistenz gegen die Krankheit aufwies, erzielte im zweijährigen Mittel die höchsten Kornerträge. Vor allem in Umwelten mit einem starken Krankheitsdruck zeigte sich ihr Ertragsvorteil gegenüber den Verrechnungssorten sowie weniger resistenten Linien (Daten nicht dargestellt).

Auch erwiesen sich die Linien im Vergleich zu den Verrechnungssorten als deutlich ertragsstabiler. Dies wird anhand des Variationskoeffizienten nach Francis und Kannenberg (1978) dargestellt (Tabelle 2, Abbildung 3).

Die Klassifizierung in verschiedene Gruppen der Ertragsstabilität demonstriert, dass der Großteil der Zuchtlinien stabile und hohe Erträge liefert (Gruppe I). Lediglich eine Linie ließ eine große Streuung bei sonst hohem Ertragsniveau in Abhängigkeit von der Umwelt erkennen (Gruppe II). In Gruppe IV sind die Typen zusammengefasst, die nur geringe Erträge bei gleichzeitig großer Varianz brachten. In dieser Gruppe finden sich neben zwei Zuchtlinien auch die beiden Verrechnungssorten.

Die hier dargestellten Ergebnisse zeigen eine Differenzierung im Zuchtmaterial der Weißen Lupine im Merkmal Anthraknoseresistenz. An den in diesem Vorhaben geprüften Linien ist ein klarer Zuchtfortschritt in der Resistenz im Vergleich zu den bisher verfügbaren Sorten erkennbar, welcher

sich positiv auf den Kornertrag und die Ertragsstabilität auswirkt. Nach der Weiterentwicklung des Materials zu Sorten werden für den Anbau in der Resistenz verbesserte und damit ertragsstabilere Formen der Weißen Lupine zur Verfügung stehen.

Danksagung

Die Förderung des Vorhabens erfolgte aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) aufgrund eines Beschlusses des deutschen Bundestages. Die Projektträgerschaft erfolgte über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung. Besonderer Dank gilt allen am Projekt beteiligten Versuchsanstellern.

Tabelle 2: Kornertrag und Ertragsstabilität zweijährig geprüfter Zuchtstämme (sieben Umwelten).

Table 2: Grain yield and yield stability (2012-2013, seven test sites).

Linie/Sorte	Relativertrag (%) ¹	SNK ²	Ertragsstabilität ³
114	119	a	38,2
115	114	ab	43,9
112	113	abc	43,7
108	112	abc	45,7
125	110	abcd	52,3
118	108	abcd	53,8
117	107	abcd	48,5
105	103	abcd	59,3
111	98	bcd	51,8
122	93	cd	65,4
119	91	d	66,3
Feodora ⁴	70	e	89,3
Amiga	61	e	90,2

¹ adjustiertes Mittel aus 2012 und 2013; 100% = 24,51 dt/ha

² Student-Newman-Keuls-Test, P<0,05; verschiedene Buchstaben = signifikante Unterschiede

³ Stabilität nach FRANCIS & KANNENBERG (1978):

CV=100*STABW/overall mean; CV, Variationskoeffizient; STABW, Standardabweichung

⁴ fünf Orte; in Hohenkammer 2012 14 Tage später gesät

Literatur

BUNDESSORTENAMT, 2000: Richtlinien für die Durchführung von landwirtschaftlichen Wertprüfungen und Sortenversuchen. Landbuch, Hannover.

FRANCIS TR, KANNENBERG LW, 1978: Yield stability studies in short-season maize. I. A descriptive method for grouping genotypes. Can J Plant Sci 58: 1029-1034. DOI: 10.4141/cjps78-157

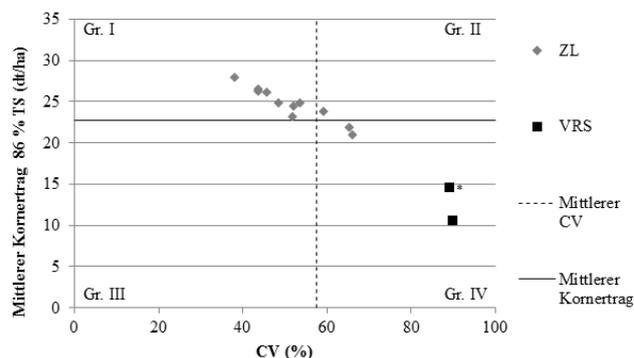


Abbildung 3: Beziehung zwischen mittlerem Kornertrag und dem Variationskoeffizienten (CV) (11 Zuchtlinien (ZL) und 2 Verrechnungsorten (VRS) in sieben Umwelten; * Feodora 2012: zwei Standorte, in Hohenkammer 14 Tage später gesät; Gr., Gruppe).

Figure 3: Correlation between mean grain yield and coefficient of variation (CV) (11 breeding lines (ZL) and 2 reference varieties (VRS) in seven environments; * Feodora 2012: two sites, sowing 14 days later in Hohenkammer; Gr., group).

LANDWIRTSCHAFTLICHE LEHRANSTALTEN TRIESDORF, 2003:

Evaluierung von Genressourcen von weißer Lupine zur Verbesserung der Resistenz gegen den Anthraknose-Pilz zur züchterischen Entwicklung von hochwertigen Eiweißpflanzen für die menschliche und tierische Ernährung mit Eignung für den Anbau im ökologischen Landbau. Schlussbericht. [<http://orgprints.org/4295/1/4295-02OE241-ble-triesdf-2004-lupine.pdf>]; accessed 6 Jan 2015]



Diaporthe phaseolorum an Sojabohnen aus österreichischen Vermehrungsregionen *Diaporthe phaseolorum* on soybeans from Austrian breeding regions

Angela Weingast^{1*}, Manfred Weinhappel¹

Abstract

The production of soybeans in Austria has steadily increased in the last few years. The *Diaporthe phaseolorum* complex is an important soybean seed disease. It is reported that fungi related to this complex are classified as an economical threat as they can lead to harvest losses of 100%. Although soybean seeds are tested for *Diaporthe* spp. in the course of seed certification in Austria, there hasn't been a lot of research about this pathogen. In the scope of this work, pathogens known to belong to the *Phomopsis complex* occurring in Austria were identified. *P. longicolla*, *D. phaseolorum* var. *sojae* and *D. phaseolorum* var. *caulivora* were found. Based on data from soybean seed certification during the years 2009-2013, different possible influence factors were investigated, such as year, region of production, germination, cultivar and maturity group. There was a significant influence of year and production area on infection rates of *Diaporthe* spp. A significant but very low correlation was noticed between infected soybean seeds and germination, but by means of the available data there was no notable influence of cultivar and maturity group on the infestation with pathogens from the *Diaporthe* complex.

Keywords

Glycine max, *Phomopsis complex*, seedborne disease, seed certification

Einleitung

Die Anbaufläche von Sojabohnen in Österreich stieg in den letzten Jahren kontinuierlich und somit auch die Bedeutung der Sojabohnen-Saatgutproduktion. *Diaporthe phaseolorum* ist eine der wichtigsten samenrelevanten Krankheiten der Sojabohne. Es handelt sich um eine Pilzkrankheit, welche samen- und bodenbürtig ist. *Diaporthe* spp. wird als wirtschaftlich schädlich eingestuft, da der Pilz zu Ertragsausfällen bis zu 100% (HARTMAN et al. 1999) und zu einer 90%-igen Reduktion der Keimfähigkeit führen kann (McGEE 1992). Eine Untersuchung auf *Diaporthe* spp. an Saatgut ist in der EU Vermarktungsrichtlinie 2002/57/EG und dem österreichischen Saatgutrecht festgelegt. Der Grenzwert liegt bei 15% Befall. Bei Überschreitung dieses

Wertes darf das Saatgut nicht mehr als solches vermarktet werden.

Bisher gibt es vier bekannte Erreger, welche zum *Diaporthe* Komplex zuordenbar sind: *D. phaseolorum* var. *sojae*, *Phomopsis longicolla*, *D. phaseolorum* var. *caulivora* und *D. phaseolorum* var. *meridionalis*. Anhand der Sojabohnenproben aus der Saatgutenerkennung des Jahres 2011 wurde festgestellt, dass die ersten drei oben genannten Erreger in Österreich vorkommen. Weiters wurde mittels der Proben aus 2009-2013 der Zusammenhang zwischen dem Auftreten von *Diaporthe* spp. und dem Untersuchungsjahr, der Anbau-region, der Keimfähigkeit und der Reifegruppe untersucht.

Material und Methoden

Probenmaterial

Das Probenmaterial stammte von österreichischen Saatgutvermehrungen der Jahre 2009-2013 und wurde im Zuge der Saatgutertifizierung von der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) untersucht. Insgesamt wurden ca. 2400 Sojabohnen Proben in die Auswertung einbezogen.

Methode

Der *Diaporthe* Komplex auf Sojabohnen-Saatgut wird mittels saurer PDA Methode zur Bestimmung des *Phomopsis Komplex* auf *Glycine max* (ISTA 2012; Anhang 7-016) erhoben. Die Samen werden 30 Sekunden mit 1%iger Natriumhypochloritlösung (NaClO) eingeweicht und danach 30 Sekunden mit destilliertem Wasser gespült. Anschließend werden 200 Samen auf einen leicht sauren (pH 4,5) Kartoffel-Glucose-Agar (PDA) angesetzt und bei 25°C und Dunkelheit sieben Tage inkubiert. Nach verstrichener Zeit werden die Proben makroskopisch ausgewertet. Im Rahmen der nationalen Saatgutertifizierung wird eine leicht modifizierte Methode durchgeführt. Der pH des Agars beträgt dabei 5,5.

Bestimmung der Erreger

Um die einzelnen Erreger bestimmen zu können, wurden befallene Samen (nach Standard Untersuchung) isoliert und auf sauren PDA umgesetzt. Diese wurden dann für

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

* Ansprechpartner: Angela WEINGAST, angela.weingast@ages.at

ca. zwei bis drei Wochen bei 25°C und 12 h UV-Licht/Dunkelheit weiterkultiviert, bis sich das Myzel über die gesamte Petrischale ausgebreitet hatte und idealerweise Fruchtkörper ausgebildet waren. Für die Zuordnung zu den

einzelnen Erregern wurden makroskopische Eigenschaften, die vorfindbaren Sporen, sowie die Ergebnisse von Vergleichsproben des *Centraalbureau voor Schimmelcultures* (CBS), Utrecht, Niederlande, verwendet. Außerdem wurden 17 ausgewählte Isolate zur molekularbiologischen Untersuchung (PCR) an Prof. Glen Hartman, *University of Illinois*, USA, geschickt, dessen Ergebnisse auch für die Klassifizierung herangezogen wurden.

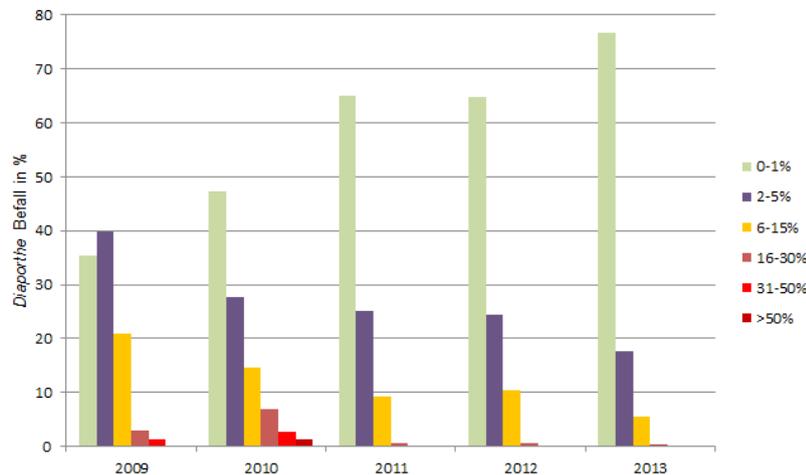


Abbildung 1: *Diaporthe* spp. Befall in Österreich 2009-2013 (in Befallsgruppen unterteilt)

Figure 1: *Diaporthe* spp. infestation in Austria 2009-2013 (classified in infestation groups)



Abbildung 2: Landwirtschaftliche Hauptproduktionsgebiete Österreichs (Quelle: Statistik Austria)

Figure 2: Main production areas of Austria (Source: Statistik Austria)

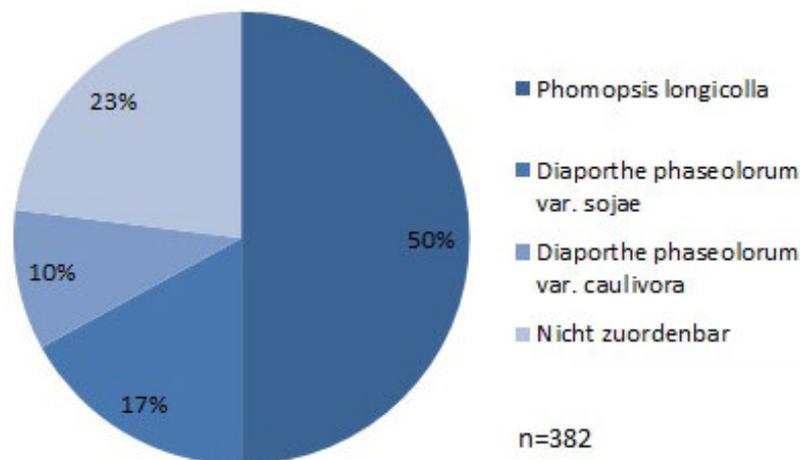


Abbildung 3: Auftreten von *Diaporthe* Erregern in Österreich

Figure 3: Occurrence of *Diaporthe* species in Austria

Statistische Auswertung

Für die statistische Auswertung wurde das Statistikprogramm SAS 9.1 (SAS Institute, Cary, NC, USA) verwendet. Um den Einfluss von Jahr, Region und Reifegruppe auf den *Diaporthe* Befall zu analysieren wurde eine Varianzanalyse durchgeführt. Der Zusammenhang zwischen *Diaporthe* Saatgutbefall und der Keimfähigkeit wurde mittels einer Korrelationsanalyse ermittelt. Für die statistische Verrechnung dienten die Daten aus 2009, 2010 und 2011.

Ergebnisse und Diskussion

Die Auswertung der Daten der Jahre 2009-2013 zeigen eine deutliche Befallsdifferenzierung von *Diaporthe* spp. auf Sojabohnensaatgut zwischen den einzelnen Jahren. Im Jahr 2009 lagen ca. 4% aller untersuchten Proben über einem Befallswert von 15%; im Jahr 2010 waren es ca. 10%. Die Jahre 2011-2013 waren eher befallsschwache Jahre (Abbildung 1). Die bisher untersuchten Proben der Ernte 2014 lassen ein starkes *Diaporthe* Auftreten in Österreich, aber auch in anderen Staaten vermuten.

Die Sojabohnen Vermehrungsgebiete wurden vier Hauptproduktionsgebieten zugeteilt: dem (i) Alpenvorland, (ii) Nordöstliches Flach- und Hügelland, (iii) Südöstliches Flach- und Hügelland und (iv) Kärnten (Abbildung 2). Auch hier gab es signifikante Unterschiede in den Befallsstärken in den einzelnen Jahren. Im Alpenvorland und Nordöstlichen Flach- und Hügelland waren die bisherigen Befallswerte zwischen 2009 und 2013 sehr niedrig. In Kärnten war 2010 ein stärkeres Befallsjahr als 12% der Proben über dem Grenzwert von 15% lagen, sowie auch im Südöstlichen Flach- und Hügelland. Damals überschritten 74% der zu untersuchenden Sojabohnenproben aus diesen Regionen den Grenzwert.

Ein hoher *Diaporthe* Saatgutbefall wird mit hohen Niederschlägen, warmen Temperaturen (mind. 15°C) und einer hohen relativen Luftfeuchtigkeit vor allem zur Abreife in Verbindung gebracht (BALDUCCHI und

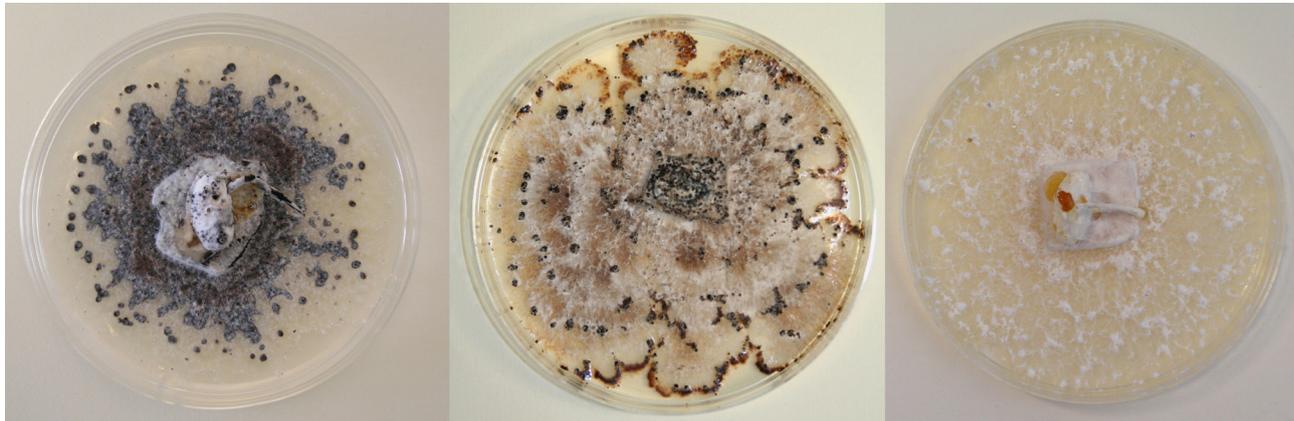


Abbildung 4: *Phomopsis longicolla*, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* und *D. phaseolorum* var. *caulivora* (v.l.n.r.) auf saurem PDA (nach ca. 3 Wochen)

Figure 4: *Phomopsis longicolla*, *Diaporthe phaseolorum* var. *sojae* and *D. phaseolorum* var. *caulivora* (from left to right) on acidic PDA (after ca. 3 weeks)

McGEE 1987). Bereits 2010 wurde ein Zusammenhang zwischen starken Niederschlägen im September und hohen *Diaporthe* Befallswerten in Kärnten und dem Südöstlichen Flach- und Hügelland festgestellt. Im September 2014 wurde in den meisten Regionen Österreichs überdurchschnittlich hohe Niederschlagswerte verzeichnet. Ein hoher Saatgutbefall mit *Diaporthe* spp. ist daher sehr naheliegend.

Hinsichtlich der Keimfähigkeit ist die Sojabohne sehr sensibel, wobei eine Infektion mit *Phomopsis* spp. nur einen unter mehreren Einflussfaktoren darstellt. Die Korrelationsanalyse ergab zwar einen signifikant negativen Zusammenhang zwischen der Keimfähigkeit und dem *Diaporthe* Saatgutbefall. Der Korrelationskoeffizient $r = -0,18$ ist jedoch sehr niedrig.

Da nicht alle Reifegruppen und Sorten in allen Regionen angebaut werden, konnte anhand der Daten aus der Saatguterkennung kein signifikanter Einfluss dieser Parameter auf einen Befall mit *Diaporthe* auf Sojabohnensaatgut festgestellt werden.

Um das Artenspektrum von *Diaporthe* spp. in Österreich zu untersuchen, wurden 382 Isolate des Jahres 2011 zur Bestimmung der Erregerarten herangezogen. Davon wurden rund 50% als *P. longicolla*, 17% als *D. phaseolorum* var. *sojae* und 10% *D. phaseolorum* var. *caulivora* klassifiziert. Aufgrund der Komplexität dieser Erregergruppe und der Vielfalt der Erscheinungsbilder konnten 23% keinem der Erreger zugeordnet werden (Abbildung 3).

Im Zuge der Untersuchungen bezüglich der Artbestimmung wurde getestet, ob eine Früherkennung der Erreger nach ISTA konformer Standarduntersuchung möglich ist. Dabei zeigte sich, daß eine Zuordnung im Rahmen einer Routineuntersuchung nach 7 Tagen überwiegend nicht gesichert möglich ist. Jedoch sind bei manchen Erregerarten durchaus charakteristische Merkmale bereits nach sieben Tagen sichtbar. Bei *P. longicolla* wurde z.B. festgestellt, dass auch nach dieser kurzen Zeit bereits viel Stroma ausgebildet war. Außerdem wies das Myzel dieser Samen auch häufig rosa, gelbe oder grünliche Verfärbungen auf. Das Myzel von befallenen Samen mit *D. phaseolorum* var. *sojae* war häufig grau-weiß bzw. braun-weiß und mit *D. phaseolorum* var. *caulivora* befallene Samen waren mit einem reinweißen

Myzel überwachsen. Jedoch gab es auch hier eine große Varietät an Erscheinungsbildern, sodass eine Klassifizierung nicht immer eindeutig und eine Früherkennung nur begrenzt möglich ist.

Das Erscheinungsbild von vollständig entwickelten *P. longicolla* Kulturen sah wie folgt aus: der Agar blieb bei manchen Kulturen durchsichtig, bei anderen färbte er sich braun. Es wurde jedoch immer sehr viel Stroma ausgebildet und es wurden fast ausschließlich Alpha Sporen gefunden. Die Fruchtkörper der Kulturen welche durchsichtig blieben hatten häufig lange Pyknidienhähse. *D. phaseolorum* var. *sojae* Kulturen waren braun-weiß und deren Fruchtkörper waren häufig in konzentrischen Kreisen angeordnet. Bei diesen Kulturen wurden sowohl Alpha als auch Beta Sporen gefunden. Hingegen blieben *D. phaseolorum* var. *caulivora* Kulturen reinweiß und bildeten weder Stroma noch wurden Fruchtkörper produziert (Abbildung 4). Zusätzlich zu diesen charakteristischen Erscheinungsbildern gab es aber auch sehr viele Mischformen, welche nicht immer eindeutig einem Erreger zugeschrieben werden konnten. Ergebnisse der PCR Untersuchung lieferten ebenfalls nicht immer eindeutige Ergebnisse.

Danksagung

Ein großes Dankeschön gilt Herrn Prof. Glen Hartman der sich bereit erklärte die Isolate einer PCR Untersuchung zu unterziehen, um die Ergebnisse abzusichern.

Literatur

- HARTMAN GL, SINCLAIR JB, RUPE JC, 1999: Compendium of soybean diseases, 4th Ed. APS Press, St. Paul, MN, USA.
McGEE DC, 1992: Soybean diseases: A reference source for seed technologists. The American Phytopathological Society, St. Paul, MN, USA.
BALDUCCHI AJ, McGEE DC, 1987: Environmental factors influencing infection of soybean seeds by *Phomopsis* and *Diaporthe* species during seed maturation. Plant Dis 71: 209-212. DOI: 10.1094/PD-71-0209:

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage von Saatgut Österreich (<http://www.saatgut-austria.at/-Tagungsarchiv-Tagungsband> 2014) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.



Evaluierung von Wintergerste-Sorten und -Zuchtstämmen auf Resistenz gegenüber Streifenkrankheit (*Drechslera graminea*) - Ergebnisse 2013-14

Evaluation of winter barley varieties and breeding lines for resistance to stripe disease (*Drechslera graminea*) - results 2013-14

Ben Schmehe^{1*}, Hartmut Spieß¹

Abstract

Winter barley varieties presently available on the German and Austrian market, advanced breeding lines from *Forschung & Züchtung Dottenfelderhof* and preselected genetic resources have been evaluated for resistance to barley leaf stripe, a fungal disease caused by *Pyrenophora graminea* (Ito et Kurib.) [*Drechslera graminea* (Rabenh. ex. Schlech.) Shoemaker] under the conditions of organic farming and natural infection on two locations in 2014. The objective is to identify varieties with a good resistance level and introduce them in organic breeding programs. The infection levels on both locations were relatively low. The varieties 'Alpaca', 'Etrusco' and 'Landi' had the highest level as a percentage of infected ears with an average of 10.5%. The majority (88%) of the varieties showed symptoms of infection on at least

one location. Twelve had no symptoms on both locations. Seven varieties had >5% infection, 47 an infection between 1 and 5%, 87 between 0 and 1% and 19 varieties had no infection on both locations. At the observed infection level it is possible to identify varieties with a high susceptibility but to identify varieties with a good resistance level years with a higher general infection level would be desirable. In pre tests 2012-2013 29 winter barley varieties mainly of East Asian origin which were listed in the GENRES final report with highest levels of resistance were discarded from the test due to poor winter hardiness and weak agronomic traits.

Keywords

disease evaluation, *Hordeum vulgare*, organic breeding, *Pyrenophora graminea*, resistance breeding, seedborne disease

Einleitung

In Klimaten mit feucht-kühler Witterung im Zeitraum von Keimung und Blüte zählt die Streifenkrankheit *Pyrenophora graminea* (Ito et Kurib.) [syn. *Drechslera graminea* (Rabenh. ex. Schlech.) Shoemaker] zu den wichtigsten saatgutübertragbaren Pilzkrankheiten der Gerste (*Hordeum vulgare* L.). In der konventionellen Züchtung spielt die Streifenkrankheitsresistenz jedoch keine Rolle, da der Befall durch Anwendung chemisch-synthetischer Beizmittel nahezu vollständig unterdrückt wird. Das Resistenzniveau der aktuellen Wintergerstesorten auf dem Markt ist derzeit nicht bekannt. Wird auf chemische Beizung verzichtet, tritt die Streifenkrankheit nach kürzerer Zeit auf und kann teilweise zu schwerem Befall führen (KNUDSEN 1986, MÜLLER 2003). ENNEKING (2002) listen 29 Akzessionen mit hoher Resistenz gegenüber Streifenkrankheit auf, die größtenteils ostasiatischer Herkunft sind (Tabelle 1). Diese wurden in Vorversuchen geprüft und wurden wegen unzureichender Winterhärte und schwacher agronomischer Eigenschaften nicht in das Prüfsortiment aufgenommen.

Die Methode der natürlichen Infektion wurde gewählt, da nach KNUDSEN (1986) die künstliche Inokulation mit der von ihm beschriebenen 'Sandwich Methode' nur Resistenzmechanismen berücksichtigt, die beim Eindringen des Erregers durch die Koleorrhiza wirksam sind. DELOGU et al. (1989) weisen deshalb darauf hin, dass für Züchtungsprogramme die natürliche Infektion mit Infektionsstreifen von Vorteil ist, da auf diese Weise alle wirksamen Resistenzmechanismen in der Pflanze zur Anwendung kommen. Für die Entwicklung resistenter Sorten für die Bedürfnisse des Öko-Landbaus sollten alle vorhandenen Resistenzmechanismen genutzt werden.

Material und Methoden

Auf Resistenz geprüft wurden derzeit zugelassene deutsche und österreichische Wintergerstensorten, fortgeschrittene Zuchtlinien der 'Forschung & Züchtung Dottenfelderhof' sowie ausgewählte genetische Ressourcen, insgesamt 160 Prüfglieder. Der Versuch wurde als vollständige, randomisierte Blockanlage mit zwei Wiederholungen auf den

¹ Forschung & Züchtung Dottenfelderhof, Dottenfelderhof 1, 61118 BAD VILBEL, Deutschland

* Ben SCHMEHE, ben.schmehe@dottenfelderhof.de

Tabelle 1: Wintergerste Akzessionen der Barley Core Collection (BCC) mit den höchsten Toleranzgraden gegenüber Streifenkrankheit (Enneking 2002).

Table 1: Barley Core Collection (BCC) accessions showing the highest level of leaf stripe resistance (but poor agronomic traits and insufficient winter hardiness).

BCC-Nr	Name	BCC-Nr	Name	BCC-Nr	Name
BCC 1351	Brucker Stamm II	BCC 1308	Magie	BCC 602	Senbon Hadaka
BCC 1341	Rebekka	BCC 1311	Maris Otter	BCC 600	Shiratama Hadaka
BCC 803	Acuario	BCC 1336	Jumbo	BCC 482	Suchou 1
BCC 481	Changchou 1	BCC 1356	Ledeci Beta	BCC 690	Buan Waessalbori
BCC 476	Chinniu 1	BCC 1346	U 259	BCC 682	Jangheung Naked 2
BCC 514	Liu leng zi da mai	BCC 620	Chikurin Ibaraki 3	BCC 678	Nussalbori
BCC 461	Takungkuan	BCC 623	Honen	BCC 709	Seongwan Gyeong
BCC 459	Tatung	BCC 592	Kikai Hadaka	BCC 687	Yeonggwang Naked
BCC 473	Tyeh 4	BCC 657	Osome	BCC 1354	HOR 758
BCC 813	Atahualpa	BCC 658	Saruho		

Standorten Dottenfelderhof (Dfh) und Darzau (Dar) in 2,5 m² großen Parzellen angelegt. Infektionsstreifen mit zwei hoch anfälligen Zuchtstämmen ('Cakri' und 'Caalp') wurden am Rand und zwischen jeder zweiten Spur des Versuchsfeldes integriert. Bei Abreife (BBCH 89-92) wurden die befallenen (tauben) Ähren in der Parzelle gezählt sowie die Anzahl der ährentragenden Halme pro Meter ermittelt, um daraus den prozentualen Befall pro Parzelle zu errechnen. Eine Varianzanalyse der Einzelwerte wurde durchgeführt und der Korrelationskoeffizient der Mittelwerte beider Standorte bestimmt.

Ergebnisse und Diskussion

Bei der Varianzanalyse konnte trotz Prüfung unterschiedlichster Funktionen keine Normalverteilung festgestellt werden. Somit kann zur Signifikanz der Ergebnisse keine Aussage gemacht werden.

Abbildung 1 zeigt die Korrelation der Befallswerte jeder Sorte/Linie auf den Standorten Dottenfelderhof (Dfh) und Darzau (Dar) mit einem Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0,58$ was als zufriedenstellende Übereinstimmung bezeichnet werden kann.

Den höchsten Befall zeigten auf beiden Standorten die drei Checksorten 'Alpaca', 'Etrusco (genetische Ressourcen)' und 'Landi' (zugelassene Sorte). Im Mittel lagen sie bei 10,5% Befall, womit das Befallsniveau als relativ niedrig einzustufen ist. Tabelle 1 zeigt zusammengefasste Daten der Versuche als Gruppierung in Befallsklassen. Grundlage sind die Mittelwerte von beiden Standorten. Tabelle 2 zeigt die Befallswerte der einzelnen Prüfglieder (zugelassene Sorten und genetische Ressourcen) gemittelt über beide Standorte.

Tabelle 2: Einteilung der gemittelten Befallswerte (*Drechslera graminea*) auf den Standorten Darzau (Dar) und Dottenfelderhof (Dfh) in Befallsklassen.

Table 2: Categories of mean infection rates (*Drechslera graminea*) as means from two locations (Dar and Dfh).

Rubriken	Zugelassene Sorten	FZD Linien	Genetische Ressourcen	Gesamt
Sorten >5% Befall	3	2	2	7
Sorten 1-5% Befall	23	15	9	47
Sorten 0-1% Befall	52	25	10	87
Sorten befallsfrei (n)	8	4	7	19
Gesamt (n)	86	46	28	160
Befallsfrei (%)	9	9	25	12

¹ Dg, *Drechslera graminea*

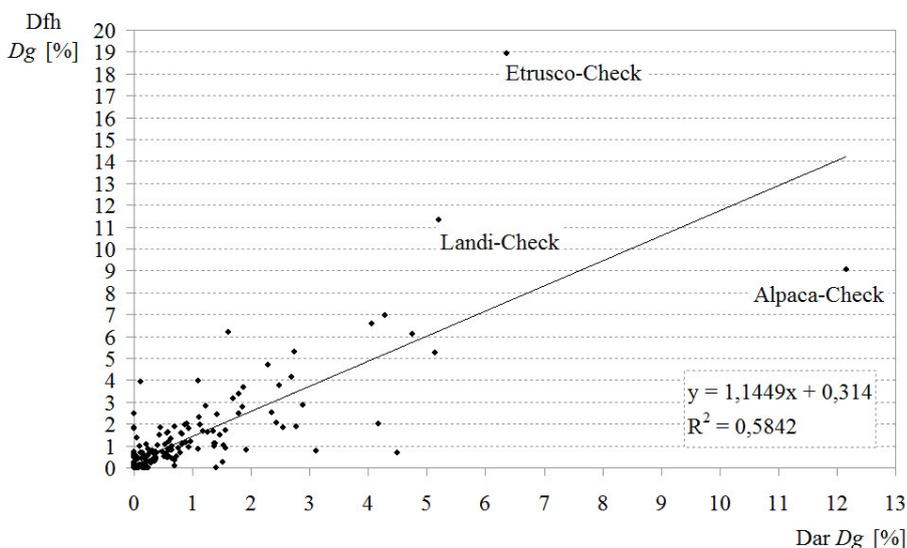


Abbildung 1: Korrelation der Befallswerte jeder Sorte/Linie mit Streifenkrankheit (*Drechslera graminea*, Dg) auf den Standorten Dottenfelderhof (Dfh) und Darzau (Dar) 2014.

Figure 1: Correlation of infection levels of the tested varieties/lines with stripe disease (*Drechslera graminea*, Dg) on the locations Dottenfelderhof (Dfh) and Darzau (Dar) 2014.

Tabelle 3: Mittlerer Befall zugelassener Sorten und genetischer Ressourcen (*) mit Streifenkrankheit (*Drechslera graminea*) auf zwei Standorten (Darzau und Dottenfelderhof) 2014

Table 3: Mean infection 2014 of registered varieties and genetic resources (*) with stripe disease (*Drechslera graminea*) on two locations (Darzau and Dottenfelderhof)

Sorte	Befall (%)	Sorte	Befall (%)	Sorte	Befall (%)
Etrusco (check)*	12,64	Famosa	0,97	Jade	0,26
Alpaca (check)*	10,61	Yatzy	0,94	Merle	0,25
Landi (check)	8,27	Fleuret*	0,89	Amrai	0,25
Malwinta	5,62	NB09405*	0,89	Yuka	0,25
MH Firrenza	5,44	SU Vireni	0,88	Madame	0,20
Salamandre*	3,90	Eureka	0,82	Gudrun	0,15
Mirco*	3,50	Chalup	0,81	Mercedes	0,13
KWS Joy	3,11	Naomie	0,79	Antonella	0,11
KWS Meridian	3,10	Alinghi	0,72	Sebrau*	0,10
Anisette	2,78	KWS Cassia	0,72	Limpid	0,10
Fridericus	2,59	Henriette	0,72	Theresa	0,10
Queen	2,58	Souleyka	0,69	Roseval	0,09
Ketos	2,53	Matros	0,64	Pelican	0,08
Mombasa	2,44	Yokohama	0,62	Montana	0,08
Carrero	2,43	Astrid	0,60	Novoperga*	0,06
Augusta	2,33	Finesse	0,54	NB09433*	0,05
Wintmalt	2,18	KWS Tenor	0,54	Palinka	0,05
KWS Scala	2,13	Semper	0,54	Dicktoo-1*	0,04
Leibniz	2,01	Cantare	0,54	Reni	0,02
Candesse	1,95	Osiris*	0,53	Waxyma	0,02
Sandra	1,54	Paroli	0,53	Eufora	0,02
NB09434*	1,51	California	0,53	Heike	0,02
Selvaggio*	1,48	Veturia*	0,52	Alba*	0
Precosa	1,45	Franziska	0,52	Kearney*	0
Boreale	1,43	Gigga	0,47	Kentucky 1-1*	0
Metaxa	1,36	Gerbel*	0,41	Kentucky 1-2*	0
Spectrum	1,36	Igri	0,40	Nico*	0
Maja*	1,25	Passion	0,39	OR101*	0
Medina	1,25	Isolde	0,39	Tania*	0
Campanile	1,25	Highlight	0,38	Amelie	0
Laverda	1,20	Nerz	0,37	Kathleen	0
Dicktoo-2*	1,18	Purdue*	0,35	Antalya	0
KWS Ariane	1,17	Stendal	0,34	Duet	0
Vetulio*	1,15	Titus	0,31	Christelle	0
Katja*	1,07	Canberra	0,31	Cordula	0
NB09410*	1,02	Lomerit	0,28	Saturn	0
KWS Glacier	0,99	Laurena	0,28	Zephyr	0

Im Vorversuch 2012 erreichten anfällige Zuchtstämme bis zu 70% Befall. Das vergleichsweise niedrige Befallsniveau von 10,5% im Mittel von 2014 der Vergleichssorten 'Alpaca', 'Etrusco' und 'Landi' erlaubt bislang nur die Identifizierung von hoch anfälligen Sorten und Linien. Die als befallsfrei gelisteten Sorten und Linien können also nur unter Vorbehalt für eine Resistenzzüchtung empfohlen werden. Für eine bessere Einschätzung des allgemeinen Resistenzniveaus und insbesondere der im Prüfwahl 2014 befallsfreien Sorten und Linien sollten unbedingt Jahre mit einem wesentlich höheren Befall der Vergleichssorten abgewartet werden.

Ein Problem der angewendeten Methode zur Evaluierung der Streifenkrankheitsanfälligkeit im Zusammenhang mit der Züchtung neuer Sorten stellt die strenge Saatgutbürtig-

keit der Streifenkrankheit dar. Aufgrund dessen kann bei natürlicher Infektion unter Feldbedingungen die Infektion eines gegebenen Jahres erst im darauf folgenden Jahr ausgezählt werden.

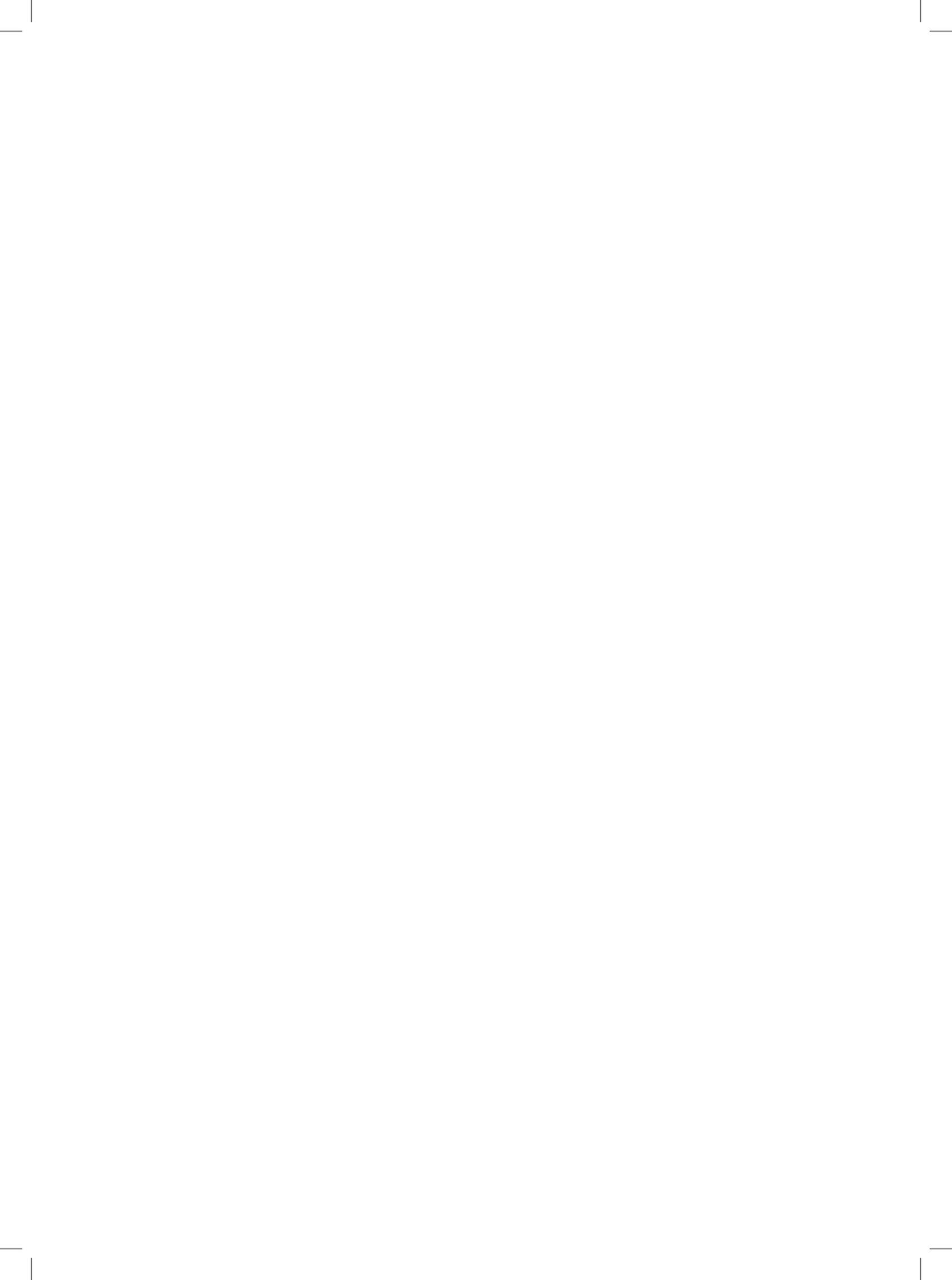
Für die Selektion von Zuchtstämmen wäre es aber wünschenswert den Befall im Jahr der Infektion, möglichst noch vor der neuen Aussaat, auszählen zu können. Dies ließe sich durch eine Bestimmung des Befallsgrades am infizierten Saatgut erreichen. Hierbei stehen unterschiedliche Methoden zur Verfügung (ISTA 1964, RENNIE und TOMLIN 1984, ISTA 2014). Dabei müsste jedoch zunächst geprüft werden, ob bei diesen Methoden bestimmte Resistenzmechanismen unberücksichtigt bleiben und welche Relevanz dies für die Züchtung resistenter Sorten hat.

Danksagung

Die Autoren danken dem Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft und der Software AG-Stiftung, Darmstadt, für die Förderung des Projektes.

Literatur

- DELOGU G, PORTA-PUGLIA A, VANNACCI G, 1989: Resistance of winter barley varieties subjected to natural inoculum of *Pyrenophora graminea*. J Genet Breed 43: 61-66.
- ENNEKING D (Hrsg.), 2002: Evaluation and conservation of barley genetic resources to improve their accessibility to breeders in Europe. Final report of the EU GENRES CT-98-104 project.
- ISTA, 1964: Barley leaf stripe - *Drechslera graminea*. Working sheet No. 6, Handbook on Seed Health Testing. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- ISTA, 2014: Osmotic method for the detection of *Pyrenophora teres* and *Pyrenophora graminea* on *Hordeum vulgare* (barley). International rules for seed testing, Annexe to Chapter 7: Seed Health Testing Methods, 7-027. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.
- KNUDSEN JCN, 1986: Resistance to barley leaf stripe. Z Pflanzenzüchtg 96: 161-168.
- MÜLLER KJ, VALÈ G, ENNEKING D, 2003: Selection of resistant spring barley accessions after natural infection with leaf stripe (*Pyrenophora graminea*) under organic farming conditions in Germany and by sandwich test. J Plant Pathol 85: 9-14.
- RENNIE WJ, TOMLIN MM, 1984: Barley leaf stripe - *Pyrenophora graminea*. Working sheet No. 6 (2nd ed.). ISTA Handbook on Seed Health Testing. Section 2 Working sheets. International Seed Testing Association, Bassersdorf, Switzerland.



Evaluation of *Fusarium* head blight resistance in European winter wheat varieties

Lenka Štočková^{1*}, Jana Chrpová¹, Václav Šíp¹

Abstract

The evaluation of *Fusarium* head blight (FHB) resistance is an important part wheat variety registration in the Czech Republic carried out by the Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture (CISTA). Varieties included in the common EU catalogue do not need further examination by CISTA before being marketed in the Czech Republic. Therefore, the evaluation of FHB resistance according to the CISTA method is highly desirable to produce uniform information and facilitate the comparison of varieties for farmers. This study summarizes three years' results of the testing of 18 winter wheat varieties from the common EU catalogue of varieties.

Keywords

Artificial infection, deoxynivalenol, DON, mycotoxin, *Triticum aestivum*

Introduction

The evaluation of *Fusarium* head blight (FHB) resistance is an important part of wheat variety registration in the Czech Republic. Resistance testing is carried out by CISTA (Central Institute for Supervising and Testing in Agriculture). New varieties are characterized for their FHB resistance in the three consecutive years and the results are spread to farmers by annual reports. Varieties registered in the common EU catalogue of varieties do not need further examination by CISTA before being marketed in the Czech Republic. Therefore, the evaluation of FHB resistance under the same conditions of artificial infection as in the national registration process is highly desirable to provide uniform information and facilitate the comparison of varieties for farmers. This study summarizes the FHB resistance of three years' tests according to the CISTA protocol of 18 European winter wheat varieties listed in the common catalogue of varieties.

Material and methods

Field tests

The field tests were conducted from 2011 to 2013 at the Research Institute of Crop Pro-

duction in Prague-Ruzyně. Nineteen wheat varieties (Table 1) were planted in hill plots in three replications. Artificial inoculation of spikes with isolate B of *Fusarium culmorum* was performed at mid-flowering (BBCH65: 50% ripe anthers). One term spraying of inoculum (conidial suspension $0.8 \times 10^7/\text{ml}$) onto ten flowering spikes randomly selected within the plot was applied. Inoculated spikes were then kept for 24 h in polythene bags. To minimize year \times location effects the plots were irrigated (if necessary) to keep high humidity in order to support disease development by irrigation of plots. For more details see CHRPOVA et al. (2007).

Resistance evaluation

FHB symptoms were recorded three times (usually 14, 21 and 28 days after inoculation) on a 1-9 scale where 9 means the lowest intensity of infection and 1 the highest. Visual symptom scores (VSS) are based on average value of the three measurements.

Fusarium damaged ('scabby') grains (FDG) were calculated as percentage of total seed number. Tolerance to infection was also expressed as percent reduction from non-inoculated control in the traits thousand grain weight (TGW-R) and grain weight per spike (GWS-R). The content of deoxynivalenol (DON) was determined by ELISA using RIDASCREEN® FAST DON kits (R- Biopharm GmbH, Darmstadt, Germany).

Table 1: Characterization of the tested varieties

Variety	Country of origin	Maintainer	Year of registration
Antonius	AT	Saatzucht Donau GesmbH & CoKG	2003
Bertold	SK	Hordeum s.r.o.	2010
Estevan	AT	Saatzucht LFS Edelhof	2005
Graindor	FR	Unisigma	2006
Hynos	DK	Nordsaat Saatzaucht GmbH	2008
Hymack	FR	Saaten Union Recherche	2007
Inspiration	DE (DK ¹)	Saatzaucht Josef Breun GmbH & CoKG	2004
IS Agape	SK	Istropol Solary a.s.	2009
IS Median	SK	Istropol Solary a.s.	2009
Lear	GB	Limagrain	2007
Meister	FR (DE ¹)	Société RAGT 2n	2010
Midas	AT	Saatzaucht Donau GesmbH & CoKG	2008
Pannonikus	AT	Saatzaucht Donau GesmbH & CoKG	2008
Papageno	AT	Saatzaucht Engelen Büchling OHG	2006
Premio	FR	Société RAGT 2n	2007
Septer	SK	Limagrain Europe SA	2009
Silvanus	SK	Hordeum s.r.o.	2010
Tacitus	AT (SK ¹)	Saatzaucht Donau GesmbH & CoKG	2009
Viola	SK	Hordeum s.r.o.	2010

¹ country of first registration

¹ Crop Research Institute, Dmrovska 507, 161 06 Prague 6 - RUZYNE, Czech Republic

* Corresponding author: Lenka ŠTOČKOVÁ, stockova@vurv.cz

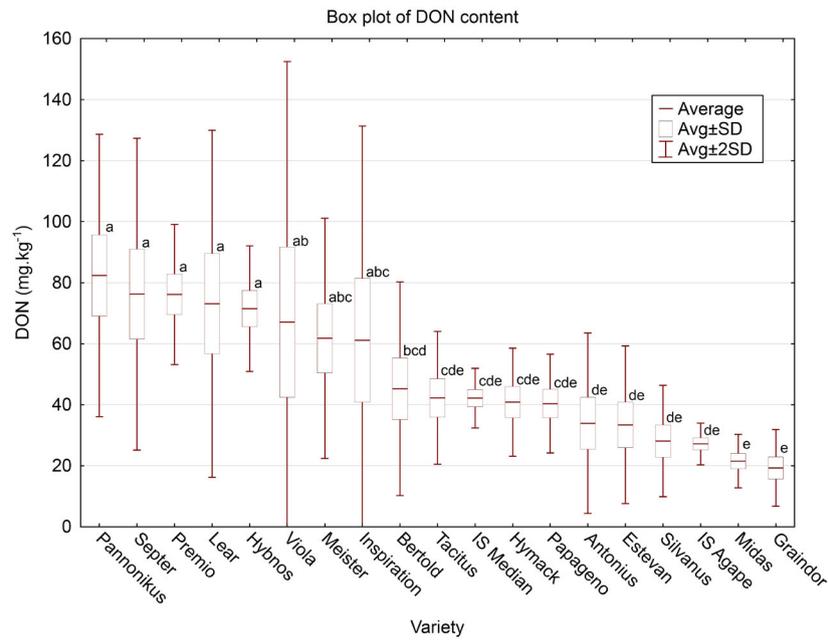


Figure 1: Mean DON content in European winter wheat varieties (2011-2013)

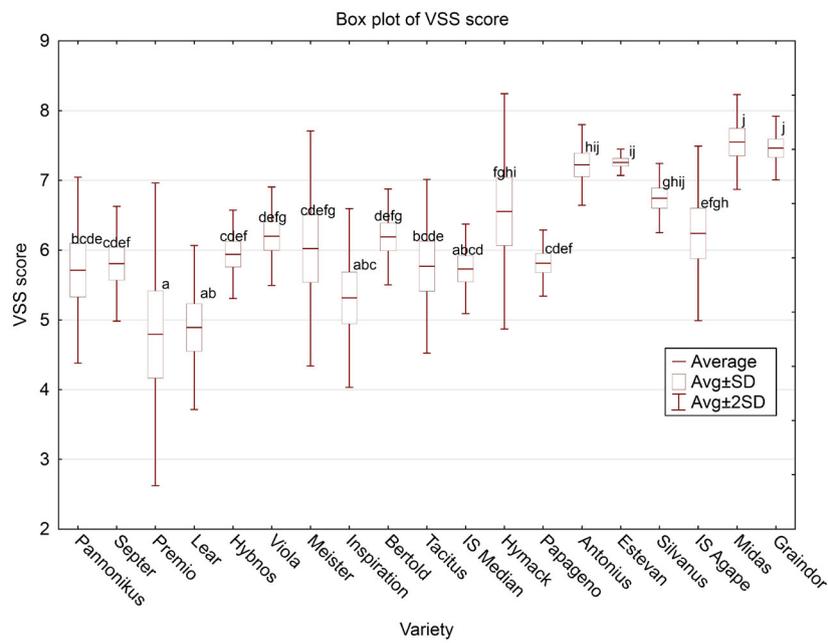


Figure 2: Mean visual symptom scores (VSS) of European winter wheat varieties (2011-2013)

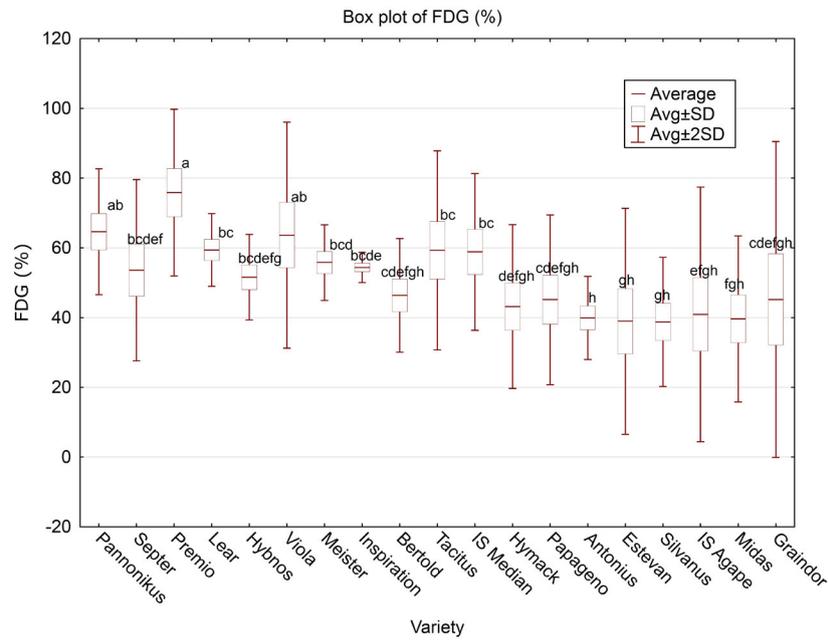


Figure 3: Mean percentage of *Fusarium* damaged grain in European winter wheat varieties (2011-2013)

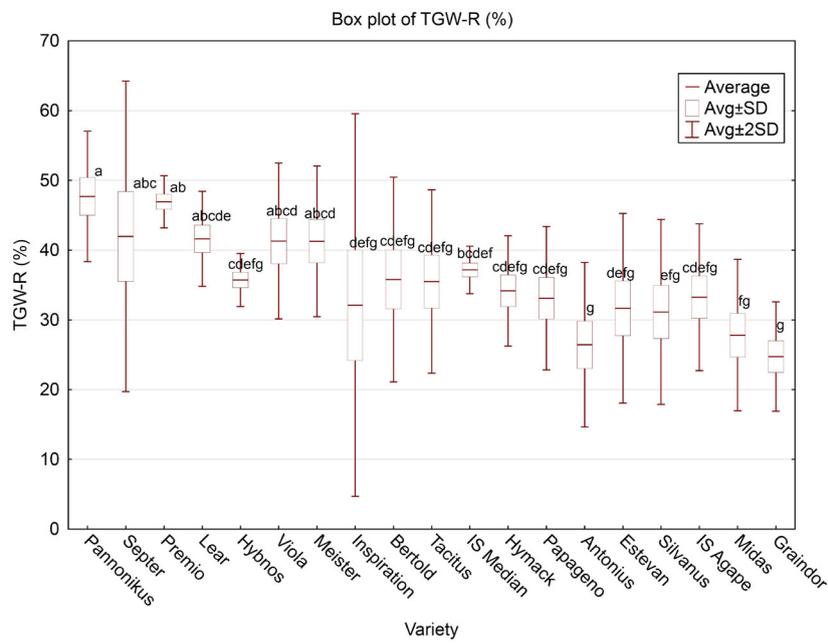


Figure 4: Mean reduction in 1000 grain weight (TGW-R) in European winter wheat varieties (2011-2013)

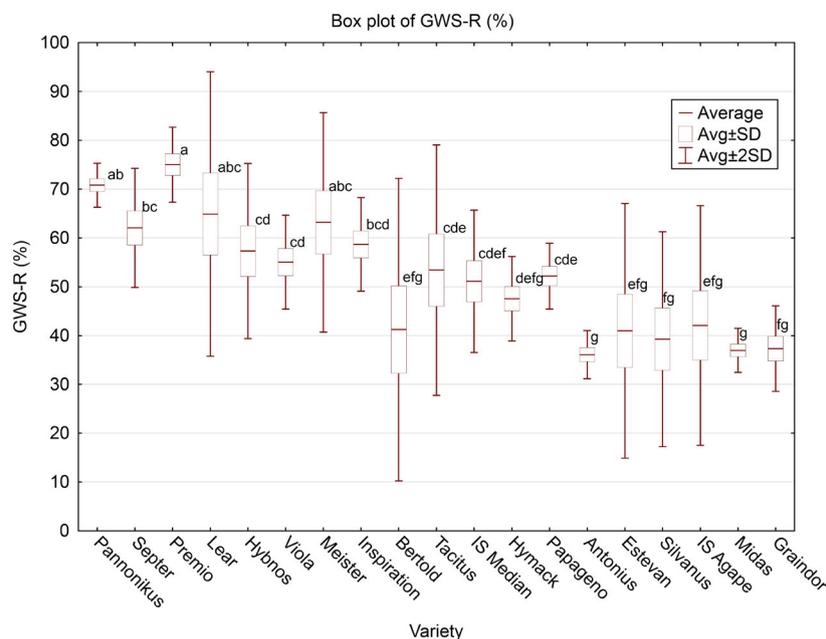


Figure 5: Mean grain weight per spike ratio (GWS-R) in European winter wheat varieties (2011-2013)

Results and discussion

Figures 1 to 5 show the intensity of *Fusarium* infection and DON accumulation in the grains. Values are means over the three years and the standard deviation (SD) characterizes inter-year variability. Means with the same letter are not significantly different as defined by multiple comparison method. In all figures the varieties sorted according to decreasing average DON content. All measured FHB traits were interrelated as was also observed in other studies (ZWART et al. 2008). The trends fit well with the DON content decrease that was also observed apart from the FDG ratio, where the decrease is not clearly visible in the whole range.

Overall, the tests proved that the highest level of resistance was associated with a low level of DON accumulation. In the artificial infection tests the highest resistance was found in the varieties 'Graindor', 'Midas', 'Antonius', 'Silvanus', 'Estevan' and 'IS Agape'. These varieties are recommended

for cultivation in areas with a higher incidence of *Fusarium* outbreaks.

Acknowledgments

This work was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (project no. NAZV QJ1210189 and MZE RO0414).

References

- CHRPOVÁ J, ŠÍP V, MATĚJOVÁ E, SÝKOROVÁ S, 2007: Resistance of winter wheat varieties registered in the Czech Republic to mycotoxin accumulation in grain following inoculation with *Fusarium culmorum*. Czech J Genet Plant Breed 43: 44-52.
- ZWART RS, MUYLLE H, VAN BOCKSTAELE E, ROLDÁN-RUIZ I, 2008: Evaluation of genetic diversity of *Fusarium* head blight resistance in European winter wheat. Theor Appl Genet 117: 813-828. DOI: 10.1007/s00122-008-0822-3.

Befall von Winterweizen, Sommerweizen und Triticale mit Gelbrost (*Puccinia striiformis*) in Österreich 2014 - Geänderte Sortenreaktion Infestation of winter wheat, spring wheat and triticale with yellow rust (*Puccinia striiformis*) in Austria 2014 - Change in cultivar reaction

Michael Oberforster^{1*}, Martin Plank¹

Abstract

The appearance of yellow rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) under natural conditions was examined in winter and spring common wheat, and winter triticale in Austria from 1990 to 2014 as part of the VCU trials (adult plant resistance, APR). Normally the data deal with leaf infestation, however, triticale showed additional lesions on the ears. Visual scoring was carried out on a 1 to 9 scale (1=no infestation; 9=very strong infestation), with 'incidence' and 'severity of infestation' encompassed in one score. The disease flourished in 1998, 1999, 2000, 2001, 2013 and 2014. A close connection between temperatures in January and February and the appearance of an epidemic was not verifiable. The results of 2014 showed a similar reaction of the genotypes in different environments. The Pearson correlation coefficient varied from $r=0.68^{**}$ to 0.97^{**} (winter wheat/semi-arid region), $r=0.69^{**}$ to 0.94^{**} (winter wheat/humid region), $r=0.74^{**}$ to 0.97^{**} (spring wheat), $r=0.68^{**}$ to 0.88^{**} (triticale leaf infestation) and $r=0.69^{**}$ to 0.82^{**} (triticale ear infestation). The epidemics of 1998 to 2001 and 2013 to 2014 have to be seen in connection with the appearance of new virulent pathotypes. Due to the distribution of the 'Warrior' race, the infestation behavior of wheat and triticale has radically changed since 2013. Many varieties react now more sensitively to an infection of yellow rust, while some varieties present themselves as more resistant. The Austrian Descriptive Variety List 2015 classifies 33 winter wheat varieties as slightly susceptible (state of expression 2 and 3), 25 varieties as slightly to moderately or moderately susceptible (expression 4 and 5) and 25 varieties as moderately to highly, highly or very highly susceptible (expression 6 to 9).

Keywords

Cultivar resistance, phenotype, stripe rust, *Triticum aestivum*, \times *Triticosecale*

Einleitung

Langjährig betrachtet werden in Österreich Weizen und Triticale häufiger durch Braunrost als durch Gelbrost

(*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) infiziert. Erhebliche Schädigungen durch Gelbrost traten von 1999 bis 2001 auf (OBERFORSTER 2002), in der Folge wurde die Krankheit nur sporadisch gesichtet. Im Jahr 2013 betraf es vorwiegend die pannonische Region und das Alpenvorland. Im Jahr 2014 litten im gesamten Anbaugebiet viele Bestände unter Gelbrost, mitunter gab es eine gravierende Ertragsreduktion. Ein vorhandenes Inokulum, die milde Witterung im Herbst und Winter 2013/14 und die Ausbreitung einer hochvirulenten Rasse bestimmten die Epidemie. In dieser Arbeit wird das Vorkommen von Gelbrost während einer Periode von 25 Jahren anhand von Daten der Sortenprüfung aufgezeigt. Bei Winterweizen wird untersucht, inwieweit die mittlere Temperatur der Monate Jänner und Februar (1990 bis 2014) sowie die Nutzung sensitiver Sorten mit dem epidemischen Gelbrostaufreten zusammenhängen (1999 bis 2014). Die geänderte Gelbrostanfälligkeit bei Weizen- und Triticale-sorten in den letzten Jahren wird charakterisiert.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Umwelten

Bei Winterweizen wurden Daten der amtlichen Sortenwertprüfung und sonstiger Sortenversuche von 1990 bis 2014 ausgewertet. Detailergebnisse des Gelbrostbefalls 2014 sind von Winterweizen und Triticale dargestellt. Die angeführten Versuche 2014 waren im Nordöstlichen Flach- und Hügel-land, im Alpenvorland sowie im Mühl- und Waldviertel lokalisiert. Sie umfassten die Standorte Fuchsenbigl (Fuc, Bez. Gänserndorf), Großnondorf (Gro, Bez. Hollabrunn), Andau (And, Bez. Neusiedl am See), Gerhaus (Ger, Bez. Bruck an der Leitha), Pottendorf (Pot, Bez. Baden), Obe (Obersiebenbrunn, Bez. Gänserndorf), Gießhübl (GieK, Bez. Amstetten), Grabenegg (Gra bzw. GraK, Bez. Melk), Pultendorf (Pul, Bez. St. Pölten), Reichersberg (Rei, Bez. Ried im Innkreis) und Schönfeld (Sch, Bez. Zwettl). Mehrheitlich sind es einfaktorische Tests ohne Fungizidbehandlung mit 3- bis 4-fach wiederholten Prüfgliedern und 8,1 bis 16,9 m² großen Parzellen. Fuc, GieK und GraK (die beiden letzteren mit künstlicher Infektion) repräsentieren Krankheitsregister in randomisierten Blockanlagen mit 2 Wiederholungen und Parzellen von 1,2 bis 1,6 m².

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

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

Wetterdaten

Bei den Temperaturwerten (°C) handelt es sich um das Mittel der Monate Jänner und Februar von den für das Gebiet repräsentativen Prüfstellen Fuchsenbigl, Großnondorf und Grabenegg.

Untersuchungsmerkmale

Die Beurteilung des Gelbrostbefalls erfolgte durch visuelle Schätzung nach dem Boniturschema von 1 bis 9, wobei 1 keine und 9 sehr starke Symptome bedeutet (BFL 2002). Häufigkeit und Stärke des Krankheitsauftretens sind dabei in einer Note zusammengefasst. Der Boniturskala ist eine logarithmisch abgestufte Prozentskala unterlegt, wobei der gesamte Pflanzenbestand, vornehmlich jedoch das Fahnenblatt (F) und die zuletzt gebildeten Blätter (F-1, F-2) beachtet werden. Lediglich chlorotische Blattareale blieben unberücksichtigt. Wurde in einem Versuch der Befall wiederholt bonitiert, steht dies meistens in Zusammenhang mit frühem Auftreten und rapidem Befallsanstieg. Die Erhebungen erfolgten bis zum Stillstand der Infektion oder bis die Blattseneszenz bzw. der Befall mit Begleitkrankheiten diese verhinderten. Bei Triticale sind die Symptome an Blättern und Ähren getrennt ausgewiesen.

Künstliche Infektion

Da der Gelbrost in natürlichen Umwelten nicht regelmäßig zu beobachten ist, wird seit dem Jahr 2006 an ein bis zwei Standorten bei Winterweizen (März, April) und Sommerweizen (April, Mai) künstlich inokuliert (BARTELS und BACKHAUS 2000). Allerdings wird die Öl-Sporensuspension nicht auf Infektionsstreifen, sondern an zwei Terminen (BBCH 21 bis 29) mit einem Microsprayer direkt auf die Beobachtungspartzen aufgebracht. Das Inokulum, ein Gemisch von in Deutschland und Österreich aktuellen Gelbrost-Pathotypen, wurde am Julius Kühn-Institut hergestellt.

Datenanalyse

Die anhand des Notenschemas von 1 bis 9 erhobenen und aggregierten Daten von 2014 waren annähernd normalverteilt. Verrechnet wurden die Mittelwerte aus Wiederholungen und Boniturterminen. Die Korrelationsanalysen wurden mit SPSS Vers. 20 (SPSS Inc., Chicago) durchgeführt. Die Sortenanfälligkeit für Gelbrost wird mit Ausprägungsstufen von 1 bis 9 beschrieben, wobei 1 einer vollständigen Resistenz, 5 einer mittleren Anfälligkeit und 9 einer sehr starken Anfälligkeit entspricht (BFL 1999-2002, AGES 2003-2015).

Ergebnisse und Diskussion

Auftreten von Gelbrost in Österreich

Gelbrost wird durch den Pilz *Puccinia striiformis*, dessen Uredosporen mit Luftströmungen

über oft weite Distanzen verfrachtet werden (NAGARAJAN und SINGH 1990), verursacht. Vom Ausfallgetreide gelangt der Pilz auf die Herbstsaaten. Die Überwinterung geschieht mittels Uredosporen oder Myzel im Pflanzengewebe, bei strengen Frösten stirbt der Erreger ab. Eine Übersicht zu den Einflüssen meteorologischer und agronomischer Faktoren auf das Gelbrostvorkommen geben CHEN (2005) und GLADDERS et al. (2007). Im Frühjahr sind die gelben oder orangen Sporenlager regellos auf den Blattspreiten verteilt. Die von Leitbündeln begrenzten streifenförmigen Symptome sind überwiegend ab Schossbeginn sichtbar. In Abhängigkeit von der Gelbrostrasse, der Temperatur und Sorte können auch längliche nekrotische Flecken mit wenigen Pusteln entstehen. Typisch für den Gelbrost ist, dass die Befallsstärke in einzelnen Jahren und Regionen oft sehr variiert HOVMØLLER (2001).

Nach dem Abklingen der Gelbrostepidemie im Jahr 2001 wurde die Krankheit nur sporadisch und mit geringer Relevanz in der landschaftlichen Praxis und den Versuchen beobachtet. Im Jahr 2013 waren vorwiegend Bestände im Nordöstlichen Flach- und Hügelland und im Alpenvorland betroffen. Wegen des relativ späten Befalls - bei Winterweizen erfolgten die Erhebungen zwischen 6. und 26. Juni (BBCH 55 bis 71) - blieben die Ertragsverluste insgesamt gering.

Im Jahr 2014 litten Winter- und Sommerweizen, Dinkel, Wintertriticale und Durumweizen in vielen Regionen unter Gelbrost. Im Gegensatz zu 2013 waren auch die nördlichen und südlichen Landesteile (Waldviertel, Steiermark, Kärnten) betroffen. Bei Wintergetreide zeigten sich erste Symptome noch während der Bestockung Ende März oder Anfang April. Offenbar sind manche Saaten bereits im Ok-

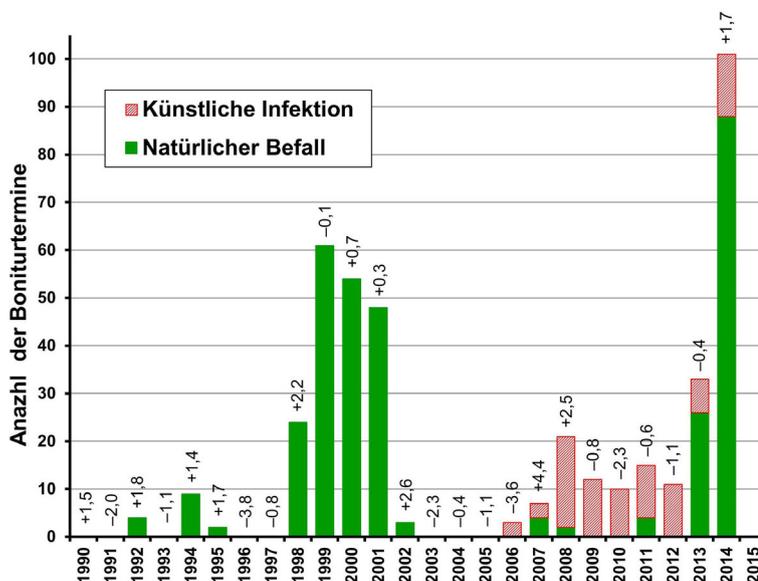


Abbildung 1: Auftreten von Gelbrost in den österreichischen Wertprüfungen und sonstigen Sortenversuchen bei Winterweizen (1990-2014) und mittlere Temperatur der Monate Jänner und Februar (jährliche Anzahl der Boniturtermine, natürlicher Befall und künstliche Infektion)

Figure 1: Occurrence of yellow rust in Austrian VCU trials and other variety trials on winter wheat (1990-2014) and average temperature in January and February (annual number of collection dates, natural and artificial infection)

Tabelle 1: Gelbrostbefall (Bonitur 1-9) und Pearson Korrelationskoeffizienten bei Winterweizen im Sortiment Trockengebiet 2014 (8 Versuche, 30 Sorten, Zuchtstämme nicht dargestellt, Mittel von 1-5 Boniturterminen und 2-4 Wiederholungen je Versuch)

Table 1: Infestation with yellow rust (scale of 1-9) and Pearson correlation coefficients in VCU trials of winter wheat in the semi-arid region 2014 (8 trials, 30 cultivars, breeding lines not shown, average of 1-5 collection dates and 2-4 replications of each trial)

Sorte (Qualität ¹)	Fuc ²	Gro	And	Ger	Pot	Obe	GieK	GraK	Mittel
Antonius (Q)	5,75	6,34	7,17	7,00	8,22	5,93	6,30	3,80	6,31
Astardo (Q)	5,50	6,67	6,34	7,22	7,89	5,93	6,40	4,30	6,28
Alfredo (Q) ³	5,00	7,00	6,17	6,45	7,44	6,20	6,50	2,50	5,91
Norenos (Q)	5,00	5,50	5,00	5,22	6,67	5,40	5,60	3,20	5,20
Adesso (Q)	4,50	4,67	3,00	4,89	6,67	5,47	4,30	2,50	4,50
Angelus (Q)	2,75	4,67	3,33	3,66	4,00	4,20	4,60	3,40	3,83
Arnold (Q)	2,75	4,17	3,34	3,78	4,22	5,27	3,90	1,00	3,55
Lukullus (Q)	2,75	3,34	3,34	2,89	3,67	3,67	3,50	1,00	3,02
Laurenzio (Q)	3,00	3,34	2,67	2,89	3,45	3,53	3,80	1,00	2,96
Emilio (Q)	2,50	2,84	2,33	3,11	3,11	3,67	3,20	1,00	2,72
Xerxes (M)	2,25	2,84	2,50	2,89	2,67	2,93	4,10	1,40	2,70
Energo (Q)	2,50	2,33	2,84	3,00	3,33	3,53	2,50	1,00	2,63
Midas (Q)	2,25	2,84	3,00	2,56	3,11	2,60	2,50	1,40	2,53
Capo (Q)	2,00	2,00	2,33	2,78	2,78	3,13	1,40	1,00	2,18
Element (Q)	1,75	2,00	1,84	2,22	2,00	2,60	2,00	1,60	2,00
Lennox (Q)	2,00	2,00	2,00	2,44	2,11	2,07	1,90	1,00	1,94
Messino (Q)	1,50	2,17	2,17	2,11	2,00	2,40	2,10	1,00	1,93
Pedro (M)	1,50	1,84	1,33	1,67	1,89	2,20	2,00	1,60	1,75
Findus (M)	1,00	1,00	1,00	1,45	1,00	1,87	2,70	1,70	1,47
Bernstein (Q)	1,00	1,00	1,00	1,33	1,45	1,40	1,00	1,00	1,15
Fuc	–	0,93**	0,92**	0,96**	0,97**	0,89**	0,85**	0,78**	0,97**
Gro		–	0,93**	0,95**	0,95**	0,94**	0,92**	0,79**	0,98**
And			–	0,95**	0,94**	0,88**	0,83**	0,72**	0,95**
Ger				–	0,98**	0,93**	0,86**	0,79**	0,98**
Pot					–	0,94**	0,85**	0,76**	0,98**
Obe						–	0,86**	0,68**	0,95**
GieK							–	0,80**	0,92**
GraK								–	0,82**

¹ F, Futterweizen; M, Mahlweizen; Q, Qualitätsweizen; *, ** signifikant bei P<0,05 bzw. P<0,01

² Abkürzungen siehe „Pflanzenmaterial und Umwelten“

³ 2014 aus der Österreichischen Sortenliste gelöscht

tober oder November infiziert worden. Trotz gebietsweise trockener Frühjahrswitterung waren Ende Mai die Blätter empfindlicher Genotypen mitunter weitgehend nekrotisiert. Aufgrund der Befalldynamik wurden viele Prüfungen an zwei bis vier Terminen beurteilt. Die Summe der Boniturtermine aller Versuche ist eine einfache Kenngröße zur Charakterisierung der Krankheitsintensität. Eine befallsfördernde Wirkung früher Saat war nicht zu beobachten. In Schönfeld, wo mehrere Weizensorten zwischen 23. September und 8. November angebaut wurden, gab es keinen nennenswerten Effekt der Saatzeitvarianten (Daten nicht gezeigt). Eine von CHRISTENSEN (1992) und HOVMØLLER (2001) für Dänemark angeführte Beziehung von mittlerer Temperatur im Jänner und Februar und dem Gelbrostbefall war nicht nachzuweisen. Beispielsweise lagen die Werte in den Jahren 2002, 2007 und 2008 mit +2,5 bis +4,4°C deutlich übernormal, ohne dass bonitierungswürdige Symptome aufgetreten wären (*Abbildung 1*). Zutreffend ist jedoch, dass in den Saisonen mit mehr Gelbrost (1998, 1999, 2000, 2001, 2013 und 2014) ausgeprägte Kahlfrösterperioden fehlten. Das Überwintern des Inokulums erscheint für das Zustandekommen einer Epidemie wesentlicher als die Anbaufläche hoch anfälliger Sorten (GLADDERS et al. 2007).

Evaluierung in den Feldprüfungen 2014

In den Winterweizenversuchen wurde der Gelbrost zwischen 7. April (BBCH 31) und 12. Juni (BBCH 71) erhoben. Die Ergebnisse von Gießhübl (GieK) und Grabenegg (GraK) sind als Resultat natürlicher und künstlicher Infektion zu betrachten. Die Wertprüfungsdaten zeigen eine signifikant übereinstimmende Sortenreaktion von $r=0,68^{**}$ bis $0,97^{**}$ (Sortiment Trockengebiet, *Tabelle 1*) bzw. $r=0,69^{**}$ bis $0,94^{**}$ (Sortiment Feuchtlagen, *Tabelle 2*).

Bei Sommerweizen folgten die Gelbrostbonituren zwischen 24. Mai (BBCH 34) und 24. Juni (BBCH 65). Die sieben Versuche erbrachten eine dem Winterweizen ähnliche phänotypische Variabilität, der Befall von 16 Prüfgliedern korrelierte mit $r=0,74^{**}$ bis $0,97^{**}$. Von den registrierten Sorten waren ‘KWS Collada’, ‘Trappe’ und ‘Xenos’ (Wechselform) gravierender bzw. ‘Lennox’ (Wechselform) und ‘Sensas’ am wenigsten betroffen (Daten nicht gezeigt).

Bei Wintertriticale wurde der Blattgelbrost zwischen 26. April (BBCH 41) und 12. Juni (BBCH 70), der Ährengelbrost zwischen 11. und 24. Juni (BBCH 67 bis 75) festgestellt. Mit $r=0,68^{**}$ bis $0,88^{**}$ (Blattbefall) und $r=0,69^{**}$ bis $0,82^{**}$ (Ährenbefall) zeigten sich die Prüfglieder in den einzelnen

Tabelle 2: Gelbrostbefall (Bonitur 1-9) und Pearson Korrelationskoeffizienten bei Winterweizen im Sortiment Feuchtlagen 2014 (8 Versuche, 30 Sorten, Zuchtstämme nicht dargestellt, Mittel von 1-5 Boniturterminen und 2-4 Wiederholungen je Versuch)**Table 2: Infestation with yellow rust (scale of 1-9) and Pearson correlation coefficients in VCU trials of winter wheat in the humid region 2014** (8 trials, 30 cultivars, breeding lines not shown, average of 1-5 collection dates and 2-4 replications of each trial)

Sorte (Qualität ¹)	Fuc ²	Pul	GieK	Gra	GraK	Rei	Rit	Sch	Mittel
Sailor (M)	6,25	7,17	7,10	5,00	5,80	5,25	6,17	6,75	6,19
Sax (M)	6,00	5,58	7,30	4,67	6,20	4,00	4,83	6,00	5,57
Norenos (Q)	5,00	5,09	5,60	5,17	3,20	2,50	4,58	5,38	4,57
Sherpa (M)	4,00	3,84	4,00	3,17	2,20	3,00	3,75	4,00	3,50
Angelus (Q)	2,75	3,42	4,60	2,67	3,40	2,75	3,33	3,63	3,32
Plinius (M)	3,00	4,25	3,60	2,67	2,00	2,50	2,67	3,88	3,07
Hewitt (F)	2,50	2,83	5,20	2,33	2,50	1,50	2,75	3,13	2,84
Lukullus (Q)	2,75	3,17	3,50	3,00	1,00	1,50	3,17	3,50	2,70
Florenzia (F)	2,25	2,75	5,20	2,17	1,00	1,00	3,34	2,75	2,56
Henrik (F)	3,00	3,17	3,30	2,67	1,00	1,00	2,33	3,25	2,47
Dominikus (M)	3,00	2,25	3,30	2,50	1,00	1,25	1,75	3,00	2,26
Richard (Q)	2,00	2,25	2,50	2,17	1,00	1,00	2,83	2,88	2,08
Estivus (M)	2,00	2,08	2,10	2,17	1,30	1,00	2,17	2,75	1,95
Pankratz (M)	2,00	2,34	1,90	1,00	1,00	1,50	1,50	3,75	1,87
Frisky (M)	1,75	1,50	3,30	1,50	1,50	1,00	2,00	2,38	1,87
Pedro (M)	1,50	1,50	2,00	1,17	1,60	1,25	1,75	2,13	1,61
Siegfried (M)	1,25	1,67	2,00	1,33	1,00	1,00	1,83	2,00	1,51
Avenir (M)	1,00	1,50	2,00	1,17	1,60	1,00	1,42	2,00	1,46
Mulan (M)	1,00	1,58	1,00	1,34	1,00	1,00	1,17	2,25	1,29
Spontan (M)	1,00	1,08	1,40	1,00	1,00	1,00	1,08	1,00	1,07
Fuc	–	0,94**	0,87**	0,91**	0,83**	0,78**	0,90**	0,81**	0,95**
Pul		–	0,86**	0,93**	0,84**	0,89**	0,93**	0,83**	0,97**
GieK			–	0,84**	0,82**	0,74**	0,85**	0,69**	0,91**
Gra				–	0,74**	0,82**	0,89**	0,79**	0,93**
GraK					–	0,85**	0,83**	0,77**	0,90**
Rei						–	0,83**	0,85**	0,90**
Rit							–	0,82**	0,95**
Sch								–	0,88**

¹ Abkürzungen siehe *Tabelle 1*² Abkürzungen siehe „Pflanzenmaterial und Umwelten“

Umwelten reproduzierbar befallen. Im zugelassenen Sortiment war ‘Trimmer’ stark bzw. ‘Agostino’, ‘Mungis’ und ‘Tricanto’ nur gering infiziert. Die Genotypen reagierten bei den zwei Parametern teilweise abweichend (*Abbildung 2*). ‘DS9’, ‘Fr198/10’, ‘Treff’ und ‘Trimmer’ wiesen einen relativ höheren Spelzen- als Blattbefall auf, bei ‘Agostino’, ‘Cosinus’, ‘DC04369/01’, ‘Elpaso’, ‘Mungis’, ‘SW164s’ und ‘Tulus’ war es umgekehrt. Über ein solches Verhalten berichten auch TIAN et al. (2004).

Dynamik des Rassenspektrums

Vom Julius Kühn-Institut (Deutschland) wurden in den Jahren 1999 bis 2001 sowie 2013 und 2014 Pflanzenproben aus dem österreichischen Anbauggebiet analysiert. Die Zusammensetzung der Gelbrostpopulation hat sich im Laufe der Zeit völlig verändert. Als Folge dessen können Resistenzgene der Sorten an Wirksamkeit einbüßen. Auch Unterschiede der Virulenzhäufigkeiten zwischen Deutschland und Österreich wurden nachgewiesen (FLATH und BARTELS 2002).

Die erstmals im Jahr 2010 in Großbritannien festgestellte Rasse ‘Warrior’ hat sich auf weite Teile Europas ausgebreitet (<http://wheatrust.org/>). In Deutschland machte diese Rasse zuletzt einen Hauptteil der Gelbrostisolate aus, sie domi-

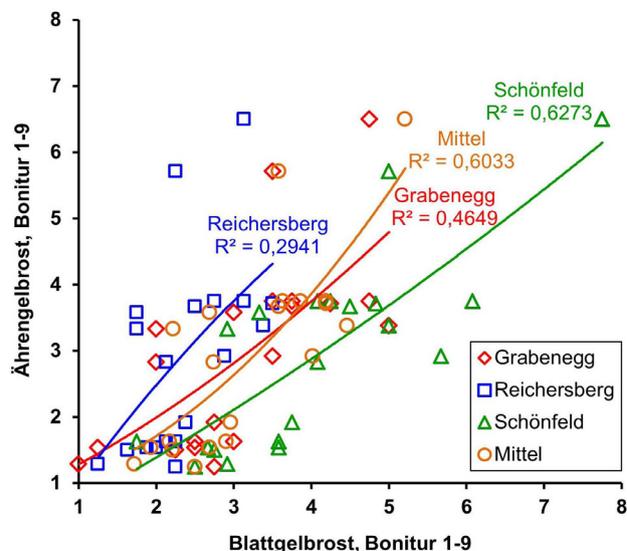


Abbildung 2: Zusammenhang von Gelbrostbefall (Bonitur 1-9) auf Blättern und Ähren bei Wintertriticale 2014 (3 Versuche, 20 Sorten, Mittel von 1-3 Boniturterminen und 4 Wiederholungen je Versuch)

Figure 2: Relationship of yellow rust (scale of 1-9) on leaves and ears in winter triticale 2014 (3 trials, 20 cultivars, average of 1-3 collection dates and 4 replications of each trial)

Tabelle 3: Anfälligkeit ausgewählter Winterweizen- und Wintertriticale Sorten für Gelbrost (Ausprägungsstufen 1-9) laut Österreichische Beschreibende Sortenliste von 2011 bis 2015

Table 3: Susceptibility of selected winter wheat and winter triticale cultivars for yellow rust (state of expressions 1-9) according to the Austrian Descriptive Variety List 2011-2015

Sorte (Qualität ¹)	2011	2012	2013	2014	2015
Winterweizen					
Adesso (Q)	–	–	3	6	6
Albertus (Q)	–	–	4	6	7
Angelus (Q)	–	2	2	5	5
Antonius (Q)	4	4	4	7	8
Arnold (Q)	3	3	3	6	5
Astardo (Q)	4	4	4	7	8
Avenir (M)	–	–	2	2	2
Capo (Q)	2	2	2	3	3
Donnato (Q)	7	7	6	6	6
Element (Q)	2	2	2	3	3
Energo (Q)	2	2	3	4	4
Estevan (Q)	2	2	2	2	2
Estivus (M)	–	4	3	3	3
Henrik (F)	3	3	3	3	4
Hewitt (F)	–	6	5	4	4
Lukullus (Q)	6	6	6	4	4
Midas (Q)	6	6	6	4	3
Mulan (M)	2	2	3	3	2
Norenos (Q)	4	3	3	6	6
Papageno (F)	5	5	5	7	8
Pedro (M)	2	2	2	3	3
Plinius (M)	–	–	2	3	4
Richard (Q)	–	4	4	4	3
Sailor (M)	3	3	3	6	7
Sax (M)	–	–	6	7	7
Winnetou (F)	2	3	3	6	8
Wintertriticale					
Agostino	2	2	2	3	3
Cosinus	2	2	2	5	5
Elpaso	2	2	2	6	6
Mungis	2	2	2	3	4
Triamant	3	3	3	3	4
Trimmer	2	2	2	6	8
Tulus	2	2	2	3	4

¹ Abkürzungen siehe *Tabelle 1*

niert auch hierzulande. Diese hochgradig aggressive und komplexe Rasse kann 11 von 14 getesteten Resistenzgenen überwinden. Lediglich die Gene *Yr5*, *Yr8*, *Yr10*, *Yr15* und *Yr24* sind noch befriedigend bis gut wirksam (FLATH et al. 2014, SOMMERFELDT-IMPE und FLATH 2014). Die Warrior-Rasse kann neben Weichweizen, Dinkel, Durumweizen, Emmer und Einkorn auch Triticale infizieren.

Schwere Gelbrostepidemien sind zumeist mit dem Aufkommen neuer Pathotypen und dem Resistenzverlust marktbedeutender Sorten verknüpft (BOYD 2005, GLADDERS et al. 2007). Diese Erkenntnis trifft in sehr ähnlicher Weise auch auf die Situation in Österreich zu. Nach Phasen mit ausgeprägter Rassendynamik sind ältere Befallsdaten für die Sortenbewertung nur mehr begrenzt nutzbar. Die Einstufungen in der Österreichischen Beschreibenden Sortenliste 2015 (AGES 2015) basieren überwiegend auf Ergebnissen von 2014.

Anfälligkeit für Gelbrost im österreichischen Sortiment

In der aktuellen Sortenliste sind die Winterweizensorten hinsichtlich ihrer Anfälligkeit für Gelbrost mit den Noten 2 (sehr gering bis gering) bis 9 (sehr stark) beurteilt. Die Sommerweichweizen differieren von gering (Note 3) bis stark bis sehr stark (Note 8), die Triticalesorten von gering (Note 3) bis sehr stark (Note 9). Über die genetische Basis der jeweiligen Gelbrostresistenz ist oft wenig bekannt.

In der Vegetationsperiode 2013 waren die Weizensorten ‘Albertus’, ‘Antonius’, ‘Astardo’, ‘Kerubino’ und ‘Norenos’ mehr von Gelbrost betroffen als es die Einstufung erwarten ließ. Verursacht wurde dies durch Verschiebungen im Pathotypenspektrum. Im Jahr 2014 führte die Rassendynamik in Verbindung mit dem beträchtlichen Infektionsdruck zu teils massiven Änderungen im Befallsverhalten (*Tabelle 3*). Die Winterweizen ‘Adesso’, ‘Albertus’, ‘Angelus’, ‘Antonius’, ‘Astardo’, ‘Augustus’, ‘Josef’, ‘Kerubino’, ‘Lucio’, ‘Norenos’, ‘Pannonikus’, ‘Papageno’, ‘Pireneo’, ‘Plutos’, ‘Sailor’, ‘Saturnus’, ‘Winnetou’ und ‘Xenos’ reagierten sensibler als zuvor. Hingegen behielten ‘Arktis’, ‘Avenir’, ‘Capo’, ‘Element’, ‘Estevan’, ‘Estivus’, ‘Mulan’, ‘Pedro’, ‘Peppino’, ‘Rainer’, ‘Renan’, ‘Rosso’ und ‘Tobias’ ihre gute Widerstandskraft. Die 1989 registrierte Sorte ‘Capo’ besitzt trotz ihres beachtlichen Anbauumfangs nach wie vor eine hohe Resistenz gegen Gelbrost. Diese beruht offenbar auf der Kombination mehrerer Minor- und Majorgene (BUERSTMAYR et al. 2014). Bei ‘Balaton’, ‘Fidelius’, ‘Fulvio’, ‘Hewitt’, ‘Laurenzio’, ‘Lukullus’, ‘Midas’ und ‘Vulcanus’ wurde die Einstufung um zwei bis vier Noten verbessert. Bei Sommerweizen sind die Sorten ‘Michael’ und ‘Sensas’ gut widerstandsfähig. ‘KWS Collada’, ‘SW Kadrijl’, ‘SW Kronjet’, ‘Trappe’ und ‘Triso’ wurden durch die Verbreitung der Warrior-Rasse anfälliger. Bei Wintertriticale haben ‘Cosinus’, ‘Elpaso’, ‘Polego’, ‘Tarzan’ und ‘Trimmer’ die Widerstandskraft gegen Gelbrost teilweise oder gänzlich eingebüßt.

Aktuell zeigen 40% der in Österreich zugelassenen Winterweizensorten eine überzeugende Adultpflanzenresistenz (Ausprägungsstufe 2 und 3). Im Jahr 2014 umfassten sie 32% der Saatgutvermehrungsflächen, näherungsweise entspricht dies der momentanen Anbaubedeutung. Etwa 35% der Fläche sind mit gering bis mittel bzw. mittel anfälligen Sorten (Ausprägung 4 und 5) bestellt. Auf 33% der Fläche wachsen Weizensorten mit mittelhoher bis sehr hoher (Ausprägung 6 bis 9) Anfälligkeit (*Tabelle 4*). Der zunehmende Flächenanteil gelbrostanfälliger Sorten in den Jahren 2001 (16,5%) und 2002 (14,9%) sowie 2013 bis 2015 (19,2 bis 33,1%) hat die Epidemien nicht ausgelöst, sondern ist eine Folge derselben. Durch eine angepasste Strategie bei der Saatgutvermehrung werden Sorten mit Defiziten in der Gelbrosttoleranz Marktanteile verlieren.

Zusammenfassung

Es wurde das natürliche Auftreten von Gelbrost bei Winterweichweizen, Sommerweichweizen und Wintertriticale in Österreich von 1990 bis 2014 in den offiziellen Feldprüfun-

gen untersucht (Adultpflanzenresistenz, APR). Üblicherweise handelt es sich um Daten zum Blattbefall, bei Triticale wurden zusätzlich die Läsionen an den Ähren erhoben. Die visuelle Befallsschätzung folgt der Skala von 1 (kein Gelbrost) bis 9 (sehr starker Gelbrost), wobei Häufigkeit und Stärke des Befalls in eine einzige Note münden. Am weitesten verbreitet war die Krankheit in den Jahren 1998, 1999, 2000, 2001, 2013 und 2014. Eine enge Beziehung zwischen mittlerer Temperatur in den Monaten Jänner und Februar und dem Auftreten einer Epidemie war nicht nachweisbar. Die Ergebnisse von 2014 zeigen eine ähnliche Reaktion der Genotypen in den verschiedenen Umwelten. Die Pearson Korrelationskoeffizienten variieren von $r=0,68^{**}$ bis $0,97^{**}$ (Winterweizen Sortiment Trockengebiet), $r=0,69^{**}$ bis $0,94^{**}$ (Winterweizen Sortiment Feuchtlagen), $r=0,74^{**}$ bis $0,97^{**}$ (Sommerweizen), $r=0,68^{**}$ bis $0,88^{**}$ (Triticale Blattbefall) und $r=0,69^{**}$ bis $0,82^{**}$ (Triticale Ährenbefall). Die Kalamitäten von 1998 bis 2001 und 2013 bis 2014 sind in Zusammenhang mit dem Erscheinen neuer virulenter Pathotypen zu sehen. Durch die Ausbreitung der Warrior-Rasse hat sich bei Weizen und Triticale das Befallsverhalten seit 2013 teils drastisch verändert. Viele Sorten reagieren nun empfindlicher auf Infektionen mit Gelbrost, einige Sorten präsentieren sich widerstandsfähiger. In der Beschreibenden Sortenliste 2015 sind 33 Winterweizen als gering anfällig (Ausprägungsstufe 2 und 3), 25 Sorten als gering bis mittel oder mittel anfällig (Ausprägung 4 und 5) und 25 Sorten als mittel bis stark, stark oder sehr stark anfällig (Ausprägung 6 bis 9) eingestuft.

Literatur

- AGES, 2003-2015: Österreichische Beschreibende Sortenliste 2003-2015, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2003-2015. Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Wien.
- BARTELS G, BACKHAUS GF, 2000: Die Prüfung von Pflanzen auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Schadorganismen in der Biologischen Bundesanstalt. Teil 2: Resistenzprüfungen von Kulturpflanzen im Acker- und Gartenbau gegen Pilze, Bakterien und Viren. Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft Berlin-Dahlem, Heft 373. Parey Buchverlag, Berlin.
- BOYD LA, 2005: Can Robigus defeat an old enemy? - Yellow rust of wheat. *J Agric Sci* 143: 233-243. DOI: 10.1017/S0021859605005095
- BFL, 1999-2002: Österreichische Beschreibende Sortenliste 1999-2002, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/1999-2002. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.
- BFL, 2002: Methoden für Saatgut und Sorten. Richtlinien für die Sortenprüfung. Sorten- und Saatgutblatt, Schriftenreihe 59/2002. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.

Tabelle 4: Anbaubedeutung von Winterweizensorten mit unterschiedlicher Gelbrostanfälligkeit laut Österreichische Beschreibende Sortenliste von 1999 bis 2015 (Anzahl der Sorten, Anteil an den Saatgut-Vermehrungsflächen, EU-Sorten blieben unberücksichtigt)

Table 4: Importance to cultivation of winter wheat cultivars with varying susceptibility to yellow rust according to the Austrian Descriptive Variety List 1999-2015 (number of cultivars, proportion of the seed propagation areas, EU-varieties were not considered)

Jahr	Anzahl Sorten (n)	Sortenanteil (%) nach Ausprägungsstufen			Flächenanteil ¹ (%) nach Ausprägungsstufen		
		1-3	4-5	6-9	1-3	4-5	6-9
1999	43	58,1	25,6	14,0	89,7	7,6	2,7
2000	44	54,5	25,0	20,5	94,6	5,1	0,3
2001	48	56,3	29,2	14,6	79,8	3,7	16,5
2002	40	62,5	20,0	17,5	77,6	7,5	14,9
2003	46	65,2	19,6	15,2	86,9	6,1	7,0
2004	51	68,6	19,6	11,8	90,2	4,7	5,1
2005	54	72,2	14,8	11,1	94,5	3,0	2,5
2006	54	81,5	11,1	7,4	95,1	1,7	3,2
2007	62	82,3	11,3	6,5	95,2	0,6	4,2
2008	63	76,2	17,5	6,3	96,8	0,3	2,9
2009	68	54,4	25,0	20,6	90,9	6,6	2,5
2010	72	52,8	25,0	22,2	62,5	30,7	6,7
2011	71	50,7	23,9	25,4	56,6	34,2	9,3
2012	75	48,0	24,0	28,0	59,3	26,8	13,9
2013	78	46,2	26,9	26,9	55,5	25,3	19,2
2014	82	30,5	30,5	39,0	55,7	25,9	18,5
2015	83	39,8	30,1	30,1	31,6	35,3	33,1

¹ Der Flächenanteil bezieht sich auf die Saatgutvermehrungsfläche des jeweils vorangegangenen Jahres

- BUERSTMAYR M, MATIASCH L, MASCHER F, VIDA G, ITTU M, ROBERT O, HOLDGATE S, FLATH K, NEUMAYER A, BUERSTMAYR H, 2014: Mapping of quantitative adult plant field resistance to leaf rust and stripe rust in two European winter wheat populations reveals co-location of three QTL conferring resistance to both rust pathogens. *Theor Appl Genet* 127: 2011-2028. DOI: 10.1007/s00122-014-2357-0.
- CHEN XM, 2005: Epidemiology and control of stripe rust (*Puccinia striiformis* f. sp. *tritici*) on wheat. *Can J Plant Pathol* 27: 314-337. DOI: 10.1080/07060660509507230.
- CHRISTENSEN K, 1992: Modeller for Gulrust Baseret på Klimadata. MSc Thesis, The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, Denmark.
- FLATH K, BARTELS G, 2002: Virulenzsituation in österreichischen und deutschen Populationen des Weizengelbrostes. Bericht 52. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 20-22 Nov 2001, pp 51-56. BAL Gumpenstein, Irnding.
- FLATH K, SOMMERFELDT-IMPE N, SCHMITT AK, 2014: Überwachung von Rostpopulationen als Voraussetzung für die Bewertung der Resistenz von Getreidesorten. 59. Deutsche Pflanzenschutztagung Forschen - Wissen - Pflanzen schützen: Ernährung sichern!, 23-26 Sept, Freiburg. *Julius-Kühn-Archiv* 447: 384.
- GLADDERS P, LANGTON SD, BARRIE IA, HARDWICK NV, TAYLOR MC, PAVELEY ND, 2007: The importance of weather and agronomic factors for the overwinter survival of yellow rust (*Puccinia striiformis*) and subsequent disease risk in commercial wheat crops in England. *Ann Appl Biol* 150: 371-382. DOI: 10.1111/j.1744-7348.2007.00131.x.
- HOVMØLLER MS, 2001: Disease severity and pathotype dynamics of *Puccinia striiformis* f.sp. *tritici* in Denmark. *Plant Pathol* 50: 181-189. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2001.00525.x.

NAGARAJAN S, SINGH DV, 1990: Long-distance dispersion of rust pathogens. *Ann Rev Phytopathol* 28: 139-153. DOI.: 10.1146/annurev.py.28.090190.001035

OBERFORSTER M, 2002: Aktuelle Situation bei Getreide-Rostkrankheiten in Österreich unter besonderer Rücksichtnahme auf das Befallsverhalten von Sorten. Bericht 52. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 20-22 Nov 2001, pp 1-7. BAL Gumpenstein, Irndning.

SOMMERFELDT-IMPE N, FLATH K, 2014: Entwicklung eines integrierten Pflanzenschutzkonzeptes zur Minimierung des Weizen gelbrostes,

Puccinia striiformis f.sp. *tritici*, in Getreidebeständen. 59. Deutsche Pflanzenschutztagung Forschen - Wissen - Pflanzen schützen: Ernährung sichern!, 23-26 Sept, Freiburg. *Julius-Kühn-Archiv* 447: 397.

TIAN S, WEINERT J, WOLF GA, 2004: Infection of triticale cultivars by *Puccinia striiformis*: first report on disease severity and yield loss. *J Plant Dis Prot* 111: 461-464.

Anmerkung: Die Online-Version des Tagungsbandes enthält Abbildungen in Farbe und kann über die Homepage von Saatgut Österreich ([http://www.saatgut-austria.at/-Tagungsarchiv-Tagungsband 2014](http://www.saatgut-austria.at/-Tagungsarchiv-Tagungsband%202014)) oder den korrespondierenden Autor bezogen werden.



Maisvirose: Unbeachtete Begleiter im internationalen Saatguthandel mit unbekanntem Folgen für den österreichischen Maisanbau.

Maize viruses: overseen risk in international seed trade with unknown consequences for the Austrian maize cultivation

Thomas Leichtfried^{1*}, Johann Schaffer¹, Richard A. Gottsberger¹

Abstract

Maize is one of the most important crops in Austria. Different pathogens, e.g. viruses and bacteria, can cause serious economic losses. The most important viruses worldwide are *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) and *Sugarcane mosaic virus* (SCMV). *Wheat streak mosaic virus* (WSMV), *Maize chlorotic mottle virus* and *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii* are also known pathogens of maize. As these pathogens are seedborne they can spread very quickly with contaminated seed lots. In this study imported maize seeds from the European Union and third countries were tested with molecular methods (RT-PCR and real time PCR). The results showed that an unexpected high level of seed lots (40%) were contaminated with viruses (MDMV, SCMV and WSMV). Therefore, this study demonstrated that maize viruses were 'imported' with seeds from the EU and third countries. From this perspective the goal for the future would be to minimize the risk of establishment and distribution of seedborne maize pathogens. A first step is the seed testing for viruses and bacteria with the most sensitive methods before further distribution and cultivation of such propagating material.

Keywords

Maize necrosis, *Pantoea stewartii*, potyvirus, real time PCR, RT-PCR, *Zea mays*

Einleitung

Mais (*Zea mays* L.) zählt in Österreich zu den wirtschaftlich bedeutendsten Feldkulturen. Durch den Befall von phytopathogenen Schaderregern können erhebliche Ertrags- und Qualitätsminderungen entstehen und dadurch große wirtschaftliche Schäden hervorgerufen werden (MEISSLE et al. 2010, OERKE 2006). Vor allem Pflanzenviren verursachen bei entsprechenden günstigen Bedingungen große Probleme, da sie nicht direkt bekämpfbar sind (DREWS et al. 2004) und schnell über große Distanzen durch Samen oder blattsaugende Vektoren (z.B. Blattläuse, Zikaden) verbreitet werden können. Der weltweite Handel mit Saatgut kann zu

einer raschen und globalen Verbreitung von gefährlichen Schaderregern führen.

Die wirtschaftlich bedeutendsten Maisviren sind das sautgutübertragene *Maize dwarf mosaic virus* (MDMV) und das *Sugarcane mosaic virus* (SCMV). Weiters können auch das *Maize chlorotic mottle virus* (MCMV) und das *Wheat streak mosaic virus* (WSMV) über das Saatgut verbreitet werden. Ein MCMV Befall konnte bisher, im Gegensatz zu den anderen sautgutübertragenen Maisviren, in Europa noch nicht beobachtet werden. Dieses Virus verursacht in Kombination mit anderen Erregern der Potyviridae (z.B. MDMV, SCMV oder WSMV) die gefürchtete *Maize lethal necrosis* Krankheit, und zählt daher auch zu den wichtigsten Maisviren in den USA und in Afrika (FAO 2013). Eine weitere Krankheit bekannt unter der Stewart's Bakterienwelke beim Mais, die durch ein pflanzenpathogenes Bakterium verursacht wird, ist vor allem in Maisanbauflächen des amerikanischen Kontinents aufgetreten und kann je nach Anfälligkeit der Wirtspflanzensorte große wirtschaftliche Schäden verursachen. Der Erreger, *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*, ist in Europa meldepflichtig und kann, wie auch pflanzenpathogene Viren, international durch infiziertes Saatgut verbreitet werden (EPPO 2013).

Ziel der molekularbiologischen Untersuchungen war es, erstmals Daten über das Auftreten von sautgutübertragenen mikrobiellen Schaderregern im Mais zu erhalten, um so einen Überblick über die Risiken von importiertem Saatgut zu bekommen und mögliche Gefahren für die österreichische Landwirtschaft abschätzen zu können.

Material und Methoden

Das Untersuchungssaatgut wurde vom Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen der AGES anonymisiert zur Verfügung gestellt. Die Untersuchungen wurden an importierten, ungebeizten Körner- und gebeizten Zuckermaisproben, aus der EU und aus Drittländern durchgeführt.

Der Nachweis der Schaderreger erfolgte mit molekularbiologischen Methoden (RT-PCR und real time PCR).

¹ AGES, Institut für Nachhaltige Pflanzenproduktion, Spargelfeldstrasse 191, 1220 WIEN, Österreich

* Ansprechpartner: Thomas LEICHTFRIED, thomas.leichtfried@ages.at

Ergebnisse und Diskussion

In 40% der Saatgutpartien konnten saatgutübertragene Maisviren nachgewiesen werden. Die Anzahl der nachgewiesenen Viren sind in *Tabelle 1* dargestellt. Bei zwei Proben konnte eine Doppelinfektion (MDMV+WSMV bzw. SCMV+WSMV) festgestellt werden und bei fünf Proben konnte die Virusart noch nicht näher bestimmt werden. Das *Maize chlorotic mottle virus* sowie *P. stewartii* subsp. *stewartii* konnten in den untersuchten Partien nicht detektiert werden.

Diese aktuellen Untersuchungen zeigten eindeutig, dass virusverseuchtes Saatgut unkontrolliert nach Österreich importiert wird. Da die Vektoren und Winterwirte für diese Viren in Österreich bereits vorhanden sind, ist das Risiko für eine dauerhafte Etablierung dieser Maisviren in Österreich sehr hoch. In den Untersuchungen sind auch bisher unbekannt Potyviren nachgewiesen worden. Es könnte sich dabei um noch unbekannt Stämme von SCMV+MDMV oder andere Maisviren wie z.B. *Johnsongrass mosaic virus*, *Sorghum mosaic virus* und *Zea mosaic virus* handeln. Da wenig bekannt ist, wie die Maispflanzen auf diese Viren reagieren, stellt dieses Saatgut ein zusätzliches Risiko für den Maisanbau dar.

Obwohl das MCMV derzeit noch nicht detektiert werden konnte, besteht dennoch das Risiko, dass der gefürchtete Maiskrankheitkomplex (*Maize lethal necrosis disease*) in Zukunft in Österreich auftreten könnte, da das MDMV, SCMV und WSMV bereits nachgewiesen werden konnte und bei einer Doppelinfektion mit MCMV diese Krankheit ausbrechen würde. Auch das meldepflichtige Bakterium *P. stewartii* subsp. *stewartii* könnte möglicherweise in Zukunft, durch die Einschleppung von verseuchtem Saatgut, an Bedeutung gewinnen.

Nur durch molekularbiologische Untersuchungen von Maissaatgut, auf saatgutübertragene Viren und Bakterien, kann man schnell und frühzeitig krankes Saatgut erkennen und aus dem Verkehr ziehen und somit das Risiko einer Etablierung und Ausbreitung von diesen mikrobiellen Schaderregern vermindern.

Tabelle 1: Anzahl der Saatgutproben mit nachgewiesenen Viren bei importiertem Maissaatgut aus der EU und Drittländern

Table 1: Amount of samples with detected viruses of imported maize seeds from the EU and third countries

Herkunft	MDMV ¹	SCMV	WSMV	MCMV	<i>P. stewartii</i>	Potyvirus ²
EU	5	12	23	0	0	5
Drittländer	0	3	0	0	0	0

¹ MDMV, *Maize dwarf mosaic virus*; SCMV, *Sugarcane mosaic virus*; WSMV, *Wheat streak mosaic virus*; MCMV, *Maize chlorotic mottle virus*

² Virusart konnte nicht bestimmt werden

Danksagung

Ein Dank an die Mitarbeiter der Abteilung für Molekularbiologische Diagnose von Pflanzenkrankheiten für die Unterstützung bei der Aufarbeitung und den Untersuchungen der Proben, sowie an die Abteilung Samenprüfung für die Bereitstellung des Maissaatgutes.

Literatur

- DREWS G, ADAM G, HEINZE C, 2004: Molekulare Pflanzenvirologie. Springer Verlag, Berlin.
- EPP0, 2013: Data sheets on quarantine pests – *Pantoea stewartii* subsp. *stewartii*. European and Mediterranean Plant Protection Organization, Paris. [http://www.eppo.org/QUARANTINE/bacteria/Pantoea_stewartii/ERWIST_ds.pdf; accessed 12 Jan 2015]
- FAO, 2013: Maize Lethal Necrosis Disease (MLND) - A snapshot. Food Security and Nutrition Group, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome. [http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/emergencies/docs/MLND%20Snapshot_FINAL.pdf; accessed 12 Jan 2015]
- MEISSELE M, MOURON P, MUSA T, BIGLER F, PONS X, VASILEI-ADIS VP, OTTO S, ANTICHI D, KISS J, PALINKAS Z, DORNER Z, VAN DER WEIDE R, GROTEN J, CZEMBOR E, ADAMCZYK J, THIBORD JB, MELANDER B, CORDSEN NIELSEN G, POULSEN RT, ZIMMERMANN O, VERSCHWELE A, OLDENBURG E, 2010: Pests, pesticide use and alternative options in European maize production: current status and future prospects. *J Appl Entomol* 134: 357-375. DOI: 10.1111/j.1439-0418.2009.01491.x
- OERKE EC, 2006: Crop losses to pests. *J Agric Sci* 144: 31-43. DOI: 10.1017/S0021859605005708

COBRA stakeholder meeting on bunt diseases in wheat

Almuth Elise Muellner^{1*}, Heinrich Grausgruber², Hermann Buerstmayr¹

Summary

During the last two decades, bunt diseases have re-emerged in organic winter wheat throughout Europe and have turned into a serious problem for organic farming. Whereas the predominantly seed-borne disease common bunt (*Tilletia tritici*, *T. laevis*) can be managed by careful seed hygiene, control of the soil-borne dwarf bunt (*T. controversa*) is more challenging. Currently, no bunt resistant and adapted varieties are available for organic farming. COBRA-Austria is part of the ERA-NET project COBRA: *Coordinating Organic plant Breeding Activities for Diversity* (www.cobra-div.eu) and aims to develop molecular markers for application in bunt resistance breeding. The 65th Plant Breeders Conference in Raumberg-Gumpenstein (24-26 November 2014) dedicated a complete session of talks to bunt diseases (see following pages of the proceedings) and also staged the second *COBRA stakeholder meeting on bunt diseases in wheat*. This stakeholder meeting served as an informal platform for around 30 participants - including researchers, conventional and organic plant breeders, and representatives of the agricultural extension service - to discuss the topic in depth. COBRA partners from Austria, Czech Republic, Denmark, and Germany were present at the meeting. The main topics discussed at the COBRA stakeholder meeting on bunt diseases in wheat included the following:

Raising awareness - There is a lack of public awareness, not only among farmers, regarding the problem of bunt in organic wheat in the German speaking parts of Europe. Raising public awareness is necessary to tackle the problem and relies on agricultural extension services as well as researchers communicating facts and new findings in appropriate ways to a broader audience.

Organic production of seeds - Producers of farm-saved seeds (farmers) need to be integrated into the official seed multiplication system; otherwise the problem of bunt will increase. The production of certified seeds for organic production will be even more



demanding in future, especially since increasing evidence points towards common bunt not being an exclusively seed-borne disease.

Molecular tools for disease detection and disease differentiation - Improved molecular tools for the detection and differentiation of bunt diseases at an early stage of plant development are urgently needed. Also, reliable tools to test for the viability of spores and distinguish bunt races at a molecular level would be helpful.

Spectrum of bunt races in Europe - There is a need to systematically monitor bunt races (and effective resistance genes) across Europe.

Resistant varieties - Host resistance is the most important factor for control of bunt in organic winter wheat. The development of molecular markers for bunt resistance would speed up the development of bunt resistant varieties. The use of variety mixtures was mentioned as potentially supportive strategy in disease management.

Raising public awareness together with the development of resistant varieties for organic agriculture were identified as the most important factors to tackle the complex problem of bunt diseases in organic wheat production.

Acknowledgments

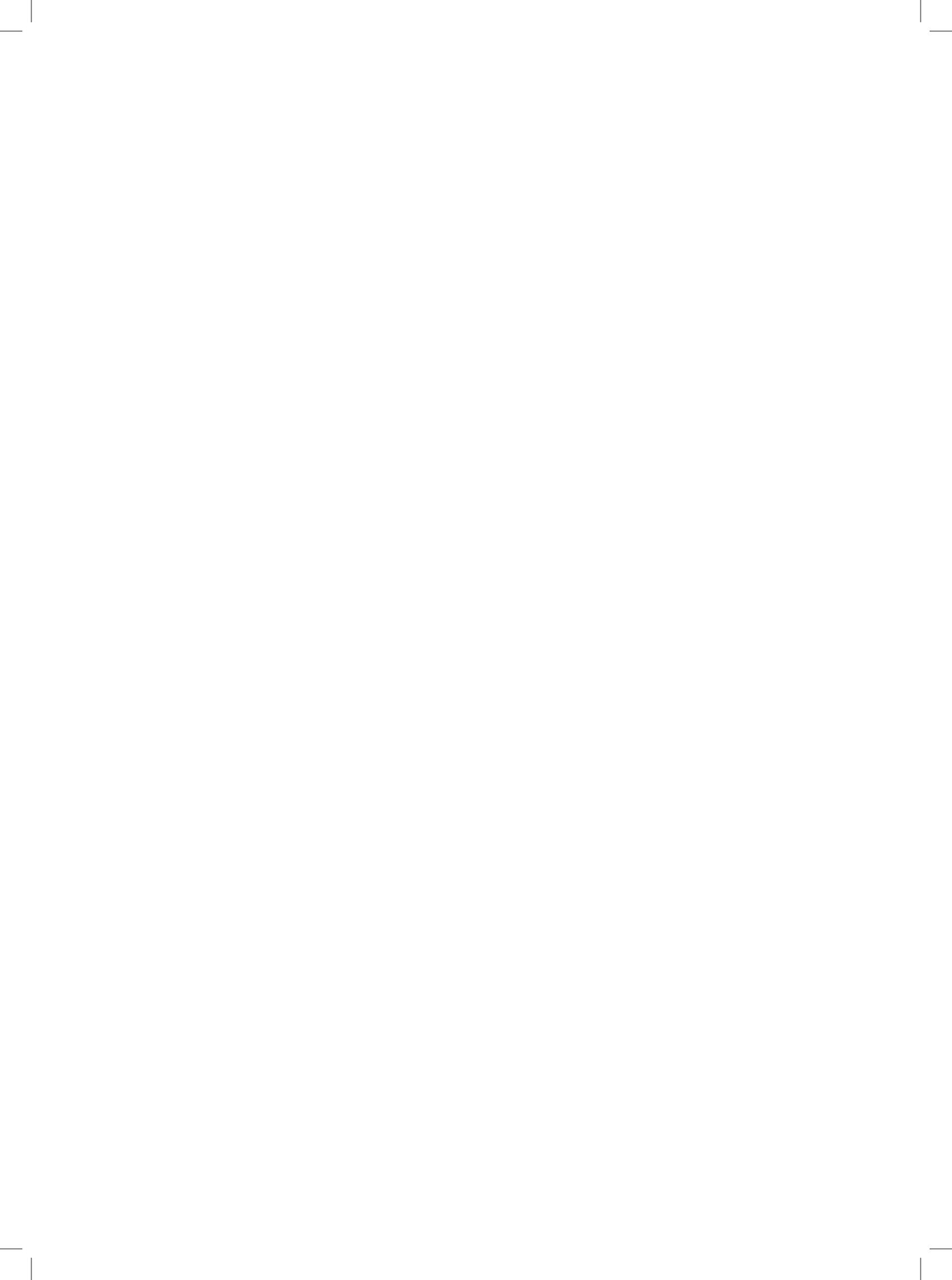
The project COBRA Austria is funded within the framework of the ERA-Net project *Core Organic 2* by the Austrian Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management (project no. 100898).



¹ Institute for Biotechnology in Plant Production, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Konrad Lorenz Straße 20, 3430 TULLN, Austria

² Department of Crop Sciences, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Konrad Lorenz Straße 24, 3430 TULLN, Austria

* Corresponding author: Almuth Elise MUELLNER, almuth-elise.muellner@boku.ac.at



Development of *Tilletia caries* during several generations in seed propagation

Manfred Weinhappel^{1*}, Angela Weingast¹

Abstract

Common bunt (*Tilletia caries*) is a mainly seedborne disease and causes high losses in organic as well as in conventional wheat (*Triticum aestivum*) and spelt (*T. spelta*) production. Due to the basic role of seed health in disease prevention, seed quality aspects have to be focussed strictly even soilborne infection sources became relevant in recent years, too. In the present work, *T. caries* results from the last 15 years, obtained from samples in the scope of official seed certification have been analysed. The set includes samples of organic and conventional origin. The data are indicating significantly the increasing spread of *T. caries* in seed production in the last years. Nevertheless in 2014 a high rate of about 80% of the tested lots still corresponds to the requirements for untreated seed according to the Austrian Seed Regulations with a threshold level of 10 spores per kernel. As the infection level of the used propagation seeds was stable high over the whole period (≤ 1 spore per kernel), mainly phytosanitary issues (e.g. soil contaminations) seems to be responsible for that development. Additionally the contamination level of farm saved seed has been analysed. Farm saved seed is contaminated significantly and several times higher than certified seed and can be considered therefore as a main agent for uncontrolled and sustainable disease spread.

In the scope of a research project funded by the Ministry for Agriculture, Forestry, Environment and Water

Management, the characterisation of the seedborne infection cycle under Austrian growing conditions is investigated. Technical goals within that project are an evaluation of the seedborne disease cycle under the conditions of a systematic seed multiplication (during several generation) for ensuring sustainable seed production in Austria with special regard to organic farming and an evaluation of existing threshold systems for *T. caries*/*T. foetida* in Austria and a benchmark to comparable systems in other EC-Member States.

In the growing season 2013/14 the first field trials have been established at two locations at two different sowing times. The results of the first year demonstrate that the number of infected plants was in high correlation to the seed infection level, nevertheless differences between locations and sowing time have been observed.

The harvested samples from the field plots were tested for their level of infection and have been sown again in the same trial design in autumn 2014. In total three growing seasons (three propagation years) will be investigated within the project.

Acknowledgements

This project is funded by the Ministry for Agriculture, Forestry, Environment and Water Management, project number 100834. Thanks to BioForschung Austria for excellent cooperation within the project.

¹ Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), Institute for Seed and Propagating Material, Phytosanitary Service and Apiculture, Spargelfeldstrasse 191, 1220 Vienna, Austria

* Corresponding author: Manfred WEINHAPPEL, manfred.weinhappel@ages.at



Untersuchungen zur Bodenbürtigkeit von Gewöhnlichem Steinbrand (*Tilletia caries*) und zur Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen anhand von Feld- und Gefäßversuchen

Investigations on the soilborne aspect of bunt (*Tilletia caries*) and on the viability of spores by field- and pot trials

Ivoneta Diethart^{1*}, Dieter Haas¹, Birgit Putz¹, Manfred Weinhappel²,
Angela Weingast², Wilfried Hartl¹

Abstract

Common bunt (*Tilletia caries*) has been spreading in Austria and in several European countries during the last years. More recently there have been reports about soil infection. Drawing attention to this aspect will be important as disease prevention strategies and measures need to be adapted especially for organic farming. In a current project the soil infection and the viability of spores are investigated. In a field trial, plots were contaminated with spores either applied on (i) surface by watering, (ii) worked into soil at a depth of 7 cm, or (iii) by a combination of both. A bunt-susceptible wheat variety was cultivated at three different sowing depths. In an additional variant the soil surface was compacted. First results confirmed the soilborne infection. The infestation level of wheat plants was lower when spores were applied on surface by watering and was increasing when worked into soil and was highest when combined. However, no significant influence of different sowing depths was found. Infestation was reduced when the soil surface was compacted but results need to be verified in the following years of the project. A pot trial was performed with field soil and two different compost-soil mixtures. The substrates were contaminated with spores and sampled over a time of 16 to 161 days. The viability of spores decreased depending on the substrate. Fastest reduction was found in compost substrate 1.

Keywords

Compost, disease cycle, disease prevention, organic farming, spore viability

Einleitung

Gewöhnlicher Steinbrand (*Tilletia caries*) ist als samenbürtige Krankheit bekannt. Seit einiger Zeit wird jedoch auch das Auftreten von bodenbürtigen Infektionen beobachtet

(BORGEN 2000). Gründe dafür sind in der zunehmenden Verbreitung von Steinbrand (WEINHAPPEL et al. 2013, AGES 2015) und sich ändernden klimatischen Bedingungen zu suchen. Diesem Aspekt wird nun vermehrt Aufmerksamkeit geschenkt, da eine Zunahme von Bodeninfektionen eine Anpassung von Strategien und Maßnahmen zur Vermeidung von Gewöhnlichem Steinbrand besonders für den biologischen Landbau erfordert. Im Rahmen des laufenden Projektes CARIES werden die Bodenbürtigkeit von Steinbrand im Feldversuch und die Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen im Gefäßversuch untersucht. In dieser Arbeit werden Ergebnisse aus dem ersten Versuchsjahr vorgestellt. Die Eignung der Methodik zur Bearbeitung der Fragestellungen sollte dabei ebenso geprüft werden.

Material und Methoden

Feldversuch

Zur Untersuchung der Bodeninfektion wurde 2013 in Wien Essling eine Versuchsfläche mit Steinbrandsporen versetzt. Die Versuchsfläche wurde dazu in vier Teilflächen geteilt, in eine (a) Kontrollfläche ohne Sporen und in drei Flächen mit unterschiedlicher Sporeneinbringung, (b) oberflächlich durch Aufgießen mit Wasser, (c) trocken eingearbeitet mit Holzrechen von 0 bis maximal 7 cm Tiefe und (d) eine Kombination aus „b“ und „c“. Alle vier Flächen wurden mit der gleichen Menge an Wasser gegossen, sodass dieselben Ausgangsbedingungen gegeben waren. Die ausgebrachte Sporenmenge betrug bei den Flächen „b“ und „c“ 2 g/m² und bei „d“ 4 g/m². Die Sporen stammten aus der Region und aus demselben Jahr der Versuchsanstellung. Der Anbau von Weizen erfolgte in Einzelkornsaat zwei Tage nach der Sporenausbringung am 28. Oktober 2013. Es wurde gesundes zertifiziertes Saatgut der Sorte ‘Capo’, die als „steinbrand-empfindlich“ gilt, verwendet. Um das Risiko einer Verschleppung von Sporen zu vermeiden, wurde der Versuch als Streifenanlage und nicht als randomisierte

¹ Bio Forschung Austria, Esslinger Hauptstraße 132-134, 1220 WIEN, Österreich

² Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Institut für Saat- und Pflanzgut, Pflanzenschutzdienst und Bienen, Spargelfeldstraße 191, 1220 WIEN, Österreich

* Ansprechpartner: Ivoneta DIETHART, i.diethart@bioforschung.at

Blockanlage angelegt. Je Teilfläche wurden Parzellen à 5,5 m² in vier Wiederholungen und drei Saattiefen, seicht (1-2 cm), mittel (2-4 cm), tief (4-6 cm), angebaut. Zusätzlich wurde eine Verdichtungsvariante angelegt. Es wurden zwei Streifen mit mittlerer Saattiefe angebaut von denen je ein Drittel verdichtet wurden. Die Verdichtung der Bodenoberfläche wurde durch zweimaliges Befahren mit dem Traktor nach der Aussaat erzeugt. Aufgrund von Problemen mit Krähenfraß erfolgte am 20. November 2013 ein Nachbau der Varianten mit mittlerer Saattiefe. Dabei wurden die neuen Saatzeilen in der Parzelle neben die bereits vorhandenen Reihen gesetzt. Anschließend wurde die Versuchsfläche zum Schutz vor Saatkrähen mit Netzen abgedeckt. Die Bodentemperatur wurde mit Bodentemperaturfühlern am Gelände in 15 cm Tiefe gemessen. Die Bonitur erfolgte Mitte Juni, bei der die befallenen Pflanzen je Parzelle gezählt wurden.

Gefäßversuch

Zur Untersuchung der Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen wurden drei unterschiedliche Substrate verwendet. Die Substrate wurden erstellt aus Felderde (kalkhaltiger grauer Auboden, Fluvisol) und Quarzsand im Gewichtsverhältnis 1:1 (=Grundsubstrat) und jeweils einer Mischung von Grundsubstrat mit zwei unterschiedlichen Komposten im Gewichtsverhältnis 7:3. In allen Gefäßen wurden je 1 g Sporen homogen im Substrat (Substratfeuchte 4-6% TS) verteilt und zusätzlich 4 Meshbags (6,25 cm², Nylon, Maschenweite 15 µm, Verbindung mit einem Draht zur Entnahme) mit jeweils einer Brandbutte eingebracht. Verwendet wurden 2,4-Liter Gefäße mit 16 cm Durchmesser und 12 cm Tiefe. Bei der Befüllung der Gefäße wurden die Substrate mit einem Gewicht gleichmäßig verdichtet und bis auf 11 cm aufgefüllt. Dabei wurden die Meshbags in einer Tiefe von 4 cm horizontal eingebracht. Die enthaltene Brandbutte wurden zuvor aufgedrückt. Die Ansätze wurde in vier Wiederholungen durchgeführt. Die Substrate wurden auf 75% der experimentell bestimmten Wasserhaltekapazität (WHK) mit Leitungswasser aufgesättigt. Das Gießen erfolgte wöchentlich, der Wasserverbrauch wurde durch Wiegen der Gefäße festgestellt und bei 65-75% WHK gehalten. Die Probenahme erfolgte an vier Terminen nach 16, 35, 63 und 161 Tagen. Aus den vier Wiederholungen je Substrat wurde eine Mischprobe erzeugt und ein Meshbag entnommen. Die Sporengewinnung erfolgte durch Nass-Siebung nach

der Methode von BABADOOST und MATHRE (1998). Die Analyse der Sporenlebensfähigkeit wurde am Institut für Saatgut, AGES, Wien, durchgeführt. Die Sporensuspension wurde mit einer Pipette auf Wasseragar (WILCOXSON und SAARI 1996), versetzt mit dem Antibiotikum Chloramphenicol, aufgebracht. Die Proben wurden vier Tage bei 20°C und Dunkelheit inkubiert und dann auf 20°C und 12 h UV-Licht/Dunkelheit umgestellt. Nach weiteren 12-14

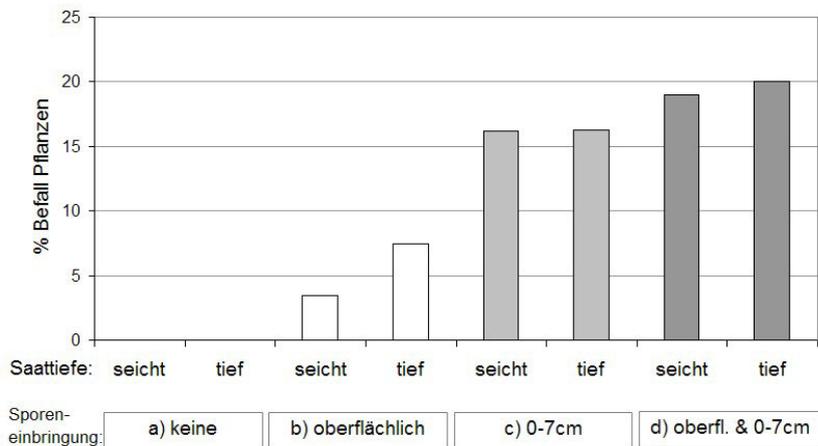


Abbildung 1: Befall von Winterweizen ('Capo') mit Gewöhnlichem Steinbrand (*T. caries*) im Feldversuch durch künstliche Bodeninfektion (Sporeneinbringung: (a) keine Sporen; (b) oberflächlich durch Aufgießen mit Wasser; (c) trocken eingearbeitet bis 7 cm Bodentiefe; (d) Kombination aus b und c. Erster Anbauzeitpunkt, Saattiefe seicht und tief).

Figure 1: Infestation of winter wheat (cv 'Capo') with common bunt (*T. caries*) in field trial with artificial soil contamination ((a) without spores; (b) with spores on surface by watering; (c) dry spores worked into the soil at a depth of 7 cm; (d) combination of b and c. First planting date, sowing depth shallow and deep).

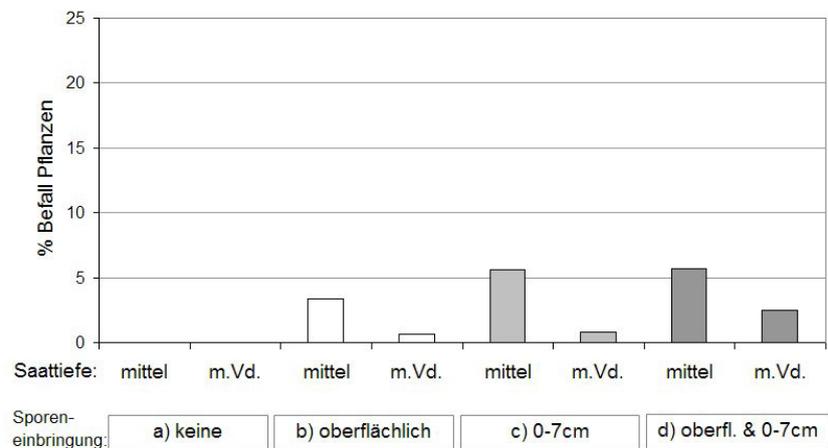


Abbildung 2: Befall von Winterweizen mit Gewöhnlichem Steinbrand (*T. caries*) im Feldversuch durch künstliche Bodeninfektion. Sporeneinbringung: (a) keine Sporen; (b) oberflächlich durch Aufgießen mit Wasser; (c) trocken eingearbeitet in 0-7 cm Tiefe; (d) Kombination aus b und c. Nachbauzeitpunkt, Saattiefe mittel und mit Verdichtung (m.Vd.).

Figure 2: Infestation of winter wheat with common bunt (*T. caries*). Field trial with soil contamination: (a) without spores; (b) with spores on surface by watering; (c) dry spores worked into the soil at a depth of 7 cm, (d) combination of b and c. Second planting date, sowing depth medium and with compaction of soil (m.Vd.).

Tagen wurden die gekeimten Sporen mittels Lichtmikroskop ausgezählt.

Ergebnisse und Diskussion

Künstliche Bodeninfektion im Freiland

Die ersten Ergebnisse aus dem Feldversuch weisen eine Infektion über den Boden nach. Die Flächen mit oberflächlich durch Aufgießen mit Wasser in den Boden eingebrachten Sporen (b) hatten einen deutlich geringeren Steinbrandbefall im Vergleich zur jenen der bis 7 cm Tiefe eingearbeiteten Sporen (c) und der Kombination aus b und c (d). Hinsichtlich der Saattiefe konnte im seichten und im tiefen Ablagebereich kein unterschiedliches Befallsrisiko während des Auflaufens der Weizenkeimlinge festgestellt werden (Abbildung 1). Angenommen wird, dass eine tiefer abgelegte Saat dem Krankheitserreger mehr Zeit gibt, den Keimling während des Auflaufens zu infizieren. Die Parzellen mit mittlerer Saattiefe, in denen Winterweizen nachgebaut worden war, hatten eine vergleichsweise geringere Infektionsrate (Abbildung 2) als jene vom ersten Anbautermin ohne Nachbau. Auffallend ist, dass in der verdichteten Variante eine deutlich geringere Anzahl an infizierten Pflanzen vorzufinden war. Bei Winterweizen kann ein leicht verdichteter Boden zu einer schnelleren Keimung führen (DEJONG-HUGHES et al. 2001). Es lässt sich jedoch nicht ermitteln, inwieweit die Infektion oder das Keimverhalten durch den Nachbau, sei es durch mechanische Einwirkung oder durch Veränderung der Bodenflächenstruktur oder der Witterungsverhältnisse, beeinflusst wurde. Die für eine Infektion optimale Temperatur liegt im Bereich von 5-10°C (VOIT et al. 2011). Die Bodentemperatur am Versuchsgelände betrug in den ersten vier Tagen im Mittel 12,6°C, dann vom 1. bis 10. November 9,9°C und bis 25. November 7,6°C. Danach fielen die Temperaturen bis Ende November stark ab auf 3,7°C. Der Versuch wurde im Jahr 2014 in demselben Versuchsdesign angelegt und läuft insgesamt drei Jahre. Geplant ist weiters das Infektionspotential der ersten Versuchsfläche in den Folgejahren zu untersuchen.

Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen im Gefäßversuch

Die Lebensdauer von Steinbrandsporen kann in Böden bis zu fünf Jahre betragen (BAUER et al. 2013). Bodeneigenschaften, Witterung und klimatische Verhältnissen spielen dabei eine Rolle. Trockene Bedingungen zum Beispiel lassen die Sporen lange im Boden überdauern. Im

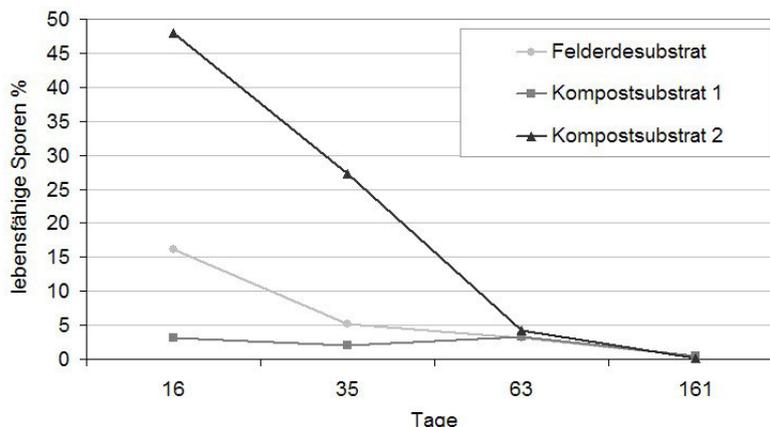


Abbildung 3: Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen (*T. caries*) im Gefäßversuch im Zeitverlauf von 16 bis 161 Tagen. Die Sporen wurden in Meshbags in ein Felderdesubstrat und in zwei unterschiedliche Kompostsubstrate eingebracht.

Figure 3: Viability of spores of common bunt (*T. caries*) in a pot trial over a time period of 161 days. Spores in meshbags were put into substrates with field soil and with two different composts.

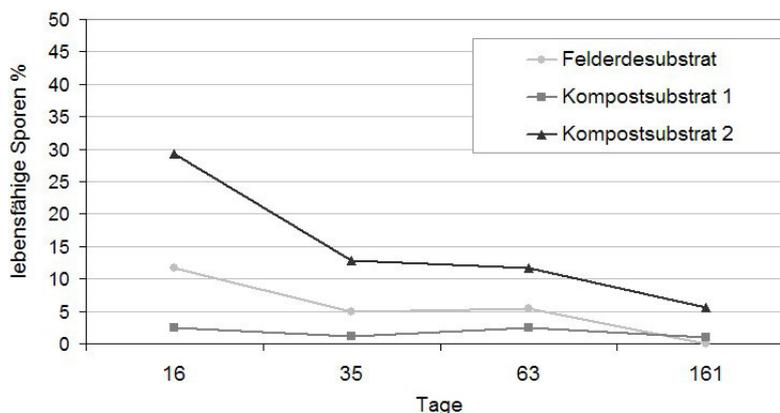


Abbildung 4: Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen (*T. caries*) im Gefäßversuch im Zeitverlauf von 16 bis 161 Tagen. Die Sporen wurden homogen verteilt in ein Felderdesubstrat und in zwei unterschiedliche Kompostsubstrate eingebracht.

Figure 4: Viability of spores of common bunt (*T. caries*) in a pot trial over a time period of 161 days. Spores were distributed homogeneously in substrates with field soil and with two different composts.

durchgeführten Gefäßversuch wurde die Lebensfähigkeit von Steinbrandsporen in drei unterschiedlichen Substraten untersucht. Ausgegangen wurde von der Annahme, dass ein Abbau von Sporen in einem Boden mit hoher mikrobieller Artenvielfalt schneller vorangeht. Abbildung 3 zeigt die lebensfähigen Sporen, die in Meshbags akkumuliert in den Substraten eingebracht waren. Abbildung 4 zeigt jene, die homogen im Substrat verteilt waren. Der Anteil an lebensfähigen Sporen ist in einer Zeitreihe von 16 bis 161 Tagen dargestellt. Zu erkennen ist, dass die Lebensfähigkeit in Abhängigkeit vom Substrat unterschiedlich schnell abnimmt. Im Kompostsubstrat 1 war die Sporenlebensfähigkeit bereits nach 16 Tagen stark reduziert. Die folgenden gelb markierten Zeilen ersetzen durch: Die Abnahme der Lebensfähigkeit von Sporen im Meshbag und von Sporen homogen im Substrat verteilt ist beim Felderdesubstrat und Kompostsubstrat 1 vergleichbar. Beim Kompostsubstrat 2

ist die Sporenlebensfähigkeit im Meshbag nach 16 und 35 Tagen noch deutlich höher, sie nimmt dann stark ab und geht so wie bei den anderen Substraten gegen Null. Hingegen sind die frei im Substrat befindlichen Sporen nach 161 Tagen noch zu rund 6% lebensfähig. Welcher Prozentsatz an lebensfähigen Sporen im Boden bei günstigen Bedingungen einen relevanten Befall verursachen kann, ist hier eine noch zu behandelnde Fragestellung. Die ersten Ergebnisse zeigen, dass die gewählte Methodik zur Bearbeitung des Themas geeignet ist und im Folgejahr weiter verwendet werden kann.

Danksagung

Herzlich gedankt sei dem Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft für die Finanzierung des Projektes.

Literatur

- AGES, 2015: Saatgutbefall mit samenbürtigen Krankheitserregern bei Wintergetreide in den Saisonen 2004/2005 bis 2007/2008. AGES/BAES, Institut für Saatgut, Wien. [http://www.baes.gv.at/fileadmin/_migrated/content_uploads/Tab4.3.1_0708.PDF; accessed 23 Jan 2015].
- BABADOOST M, MATHRE DE, 1998: A method for extraction and enumeration of teliospores of *Tilletia indica*, *T. controversa*, and *T. barclayana* in soil. *Plant Dis* 82: 1357-1361. DOI: 10.1094/PDIS.1998.82.12.1357.
- BAUER R, VOIT B, KILLERMANN B, HÜLSBERGEN KJ, 2013: Nachweis über die Dauer der Infektionsfähigkeit von Steinbrand- (*Tilletia caries*) und Zwergsteinbrandsporen (*T. controversa*) im Boden und Stallmist unter Berücksichtigung verschiedener Fruchtfolgen in Biobetrieben. Tagungsband 63. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 9.-21. Nov. 2012, Raumberg-Gumpenstein, pp 55-56. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.
- BORGEN A, 2000: Perennial survival of common bunt (*Tilletia caries*) in soil under modern farming practice. *Z Pflkrankh Pflschutz* 170: 182-188.
- DEJONG-HUGHES J, MONCRIEF JF, VOORHEES WB, SWAN JB, 2001: Soil compaction: causes, effects and control. University of Minnesota, Extension. [<http://www.extension.umn.edu/agriculture/tillage/soil-compaction/>; accessed 12 Jan 2015].
- VOIT B, DRESSLER M, KILLERMANN B, 2012: Erarbeitung von Schwellenwerten zur wirksamen Bekämpfung von Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) und Steinbrand (*Tilletia caries*) sowie deren praktische Umsetzung im Öko-Landbau. Abschlussbericht. [http://orgprints.org/20630/1/20630-06OE081-lfi-killermann-2012-bekaeempfung_zwergsteinbrand.pdf; accessed 12 Jan 2015].
- WEINHAPPEL M, OBERFORSTER M, FLAMM C, PLANK M, 2013: Sortenprüfung der Anfälligkeit gegenüber Streifenkrankheit der Gerste und Weizensteinbrand. Tagungsband 63. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, 9.-21. Nov. 2012, Raumberg-Gumpenstein, pp 43-48. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.
- WILCOXSON RD, SAARI EE, 1996: Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management. CIMMYT, Mexico, DF. [<http://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/1211/61965.pdf>; accessed 23 Jan 2015].

Sortenanfälligkeit von Winterweizen gegenüber Zwergsteinbrand Susceptibility of winter wheat varieties to dwarf bunt of wheat

Robert Bauer¹*, Benno Voit¹, Berta Killermann¹

Abstract

In organic farming, dwarf bunt of wheat (*Tilletia controversa*) is a serious disease that can cause high damage in wheat production. In case of a heavy infestation, the harvested crop can be used for neither food nor feed and additionally the soil is strongly infested with bunt spores for several years. As part of the EU project COBRA, 40 breeding lines and varieties of winter wheat were tested in a one year field trial under practical conditions for their susceptibility against dwarf bunt of wheat. Results obtained in earlier field trials regarding resistance as well as susceptibility to dwarf bunt infection could be confirmed. In another field trial, winter wheat varieties tested in Bavarian variety trials for their suitability in organic farming were screened for their susceptibility to dwarf bunt infection for three years at two test sites. Three wheat variety groups could be distinguished: a susceptible group, a group of intermediate susceptibility, and a less susceptible group. The first and the last group are statistically different.

Keywords

Dwarf bunt, organic farming, resistance, *Tilletia controversa*, *Triticum aestivum*

Einleitung

Im ökologischen Landbau ist der bodenbürtige Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) eine gefährliche Krankheit, die zu großen Schäden im Weizenanbau führen kann. Ist der Befall hoch, so kann das geerntete Getreide weder als Nahrungs-, noch als Futtermittel verwendet werden. Zusätzlich wird der Boden für mehrere Jahre mit Brandsporen verseucht.

Im Rahmen einer Projektbeteiligung am EU-Projekt COBRA (*Coordinating Organic plant Breeding Activities for diversity*) wurden im ersten Versuchsjahr (2013/14) 40 Linien und Sorten von Winterweizen auf ihre Anfälligkeit gegenüber Zwergsteinbrandbefall unter Praxisbedingungen getestet. Zuvor waren ebenfalls unter Praxisbedingungen 15 Winterweizensorten, die in Landessortenversuchen auf ihre Eignung für einen Anbau unter ökologischen Bedingungen untersucht wurden, drei Jahre an zwei Standorten auf ihre Anfälligkeit gegenüber Befall mit Zwergsteinbrand geprüft worden.

Material und Methoden

COBRA Versuch

Der Anbau der 40 Linien und Sorten des Winterweizens erfolgte am Standort Wolfersdorf in Oberbayern in zwei Wiederholungen in Reihen von 10 Metern mit einem Reihenabstand von 25 cm. Die Saatstärke pro Reihe betrug 600 Korn. Unter den angebauten Linien und Sorten befanden sich Linien/Sorten des Differentialsortiments nach GOATES (1996), die über je eines der bekannten Resistenzgene gegen Steinbrand und Zwergsteinbrand verfügen und dadurch für eine Charakterisierung der am jeweiligen Versuchsstandort vorkommenden pathogenen Rasse(n) herangezogen werden. Der Versuch wurde auf einer ökologisch zertifizierten Fläche mit starkem Zwergsteinbrandbefall im Jahr 2011 angelegt. Das natürliche Brandsporenpotenzial im Boden der Versuchsfläche betrug rund 3500 Brandsporen pro 10 g Boden und wurde ermittelt mit der bei BAUER et al. (2014) beschriebenen Methodik. Die Anfälligkeit der Linien und Sorten gegenüber Zwergsteinbrand wurde über den prozentualen Anteil der befallenen Ähren bestimmt.

Sortenversuch

15 Winterweizensorten wurden drei Jahre an zwei Standorten, Wolfersdorf in Oberbayern (BY) und Löffingen in Baden-Württemberg (BW), in vier Wiederholungen in Reihen von 10 Metern (Reihenabstand 25 cm) und einer Aussaatstärke von 600 Korn pro Reihe angebaut. Das Brandsporenpotenzial im Boden der Versuchsflächen war natürlichen Ursprungs und betrug in Wolfersdorf rund 3500 Sporen (s.o.) und in Löffingen ca. 4500 Sporen pro 10 g Boden. Unterschiede in der Anfälligkeit der Winterweizensorten gegenüber Befall mit Zwergsteinbrand wurden bestimmt anhand des prozentualen Ährenbefalls und des Sporenbettes, d.h. der Anzahl der Brandsporen pro Korn.

Ergebnisse und Diskussion

COBRA Versuch

Versuche zur Resistenz gegen Zwergsteinbrand sind erfahrungsgemäß mit Schwierigkeiten verbunden, da für eine Keimung der Brandsporen bestimmte Ansprüche an Temperatur, Feuchtigkeit und Lichtverhältnisse erfüllt sein müssen, wie sie idealerweise unter einer Schneedecke während eines längeren Zeitraums vorherrschen. Wenn ein

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft (LfL), Lange Point 6, Labor 2, 85354 FREISING, Deutschland

* Ansprechpartner: Robert BAUER, Robert.Bauer@lfl.bayern.de

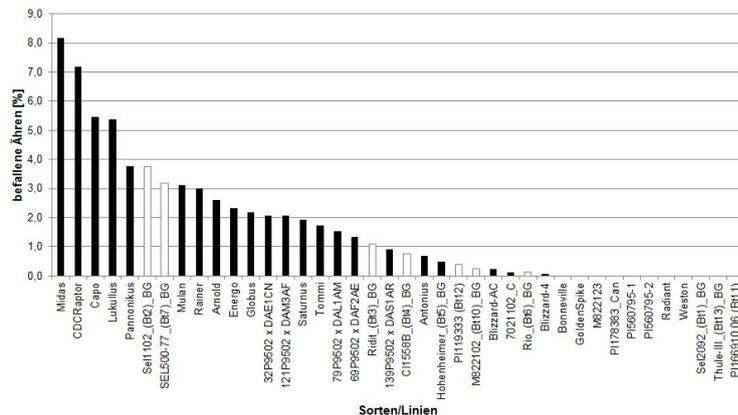


Abbildung 1: Prozentualer Ährenbefall der untersuchten Sorten bzw. Linien (Mittelwerte, Projekt COBRA)

Figure 1: Infestation of ears in percent of the tested varieties/lines (mean values, EU project COBRA)

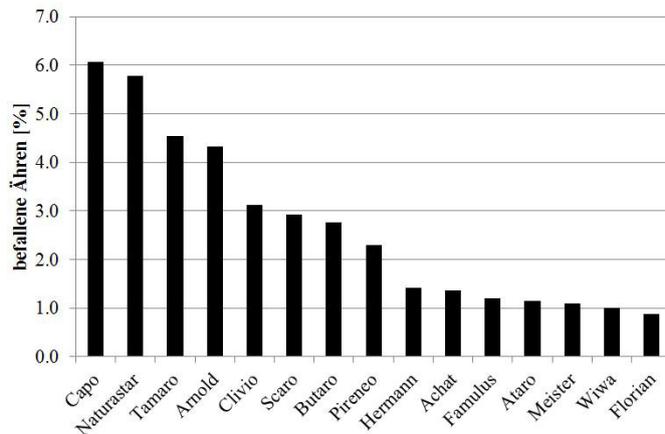


Abbildung 2: Prozentualer Ährenbefall der untersuchten Sorten (Mittelwerte über drei Jahre und zwei Standorte)

Figure 2: Infestation of ears (%) of the tested varieties (mean values over three years and two sites)

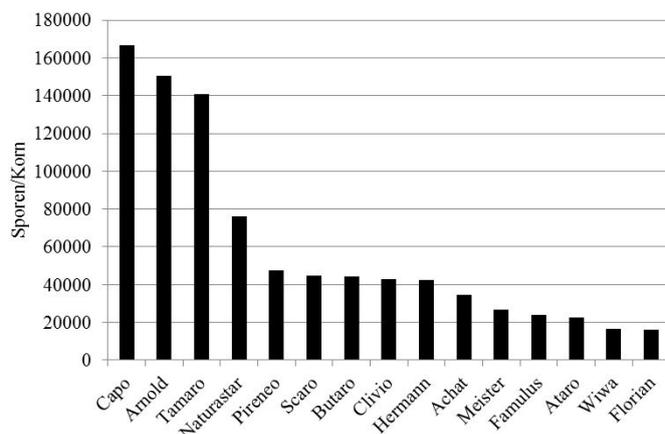


Abbildung 3: Sporenzahl pro Korn je Sorte (Mittelwerte über drei Jahre und zwei Standorte)

Figure 3: Number of spores per kernel (mean values over three years and two sites)

ausreichend hohes natürliches Brandsporenpotenzial im Boden vorhanden ist, können unter Praxisbedingungen aussagekräftige Ergebnisse erzielt werden. Linien und Sorten, die in früheren Anbauversuchen eine effektive Resistenz gegen Befall mit Zwergsteinbrand aufwiesen, zeigten im Versuch keinen bis fast keinen Befall, während die bekannte Anfälligkeit bestimmter Sorten gleichermaßen bestätigt werden konnte (Abbildung 1). Anhand des Befallsbilds von Sorten des Differentialsortiments ergab sich ein spezifisches Virulenzmuster des Erregers und es konnte so eine erste Charakterisierung der pathogenen Rasse am Versuchsstandort erfolgen.

Sortenversuch

Es konnten drei Gruppen von Weizensorten unterschieden werden: eine Gruppe mit anfälligen Sorten, eine Gruppe mit Sorten mittlerer Anfälligkeit und eine Gruppe mit weniger anfälligen Sorten. Die anfällige Gruppe und die weniger anfällige Gruppe unterscheiden sich signifikant, gemäß dem Student-Newman-Keuls (SNK) Test. In der Gruppe der anfälligen Sorten befinden sich 'Capo', 'Tamaro' und 'Arnold', während 'Florian' und 'Wiwa' wenig anfällig waren (Abbildung 2). Die Auswertung über die Ermittlung des prozentualen Ährenbefalls wird dabei gestützt durch die Ergebnisse des Sporenbesatzes pro Korn (Abbildung 3).

Danksagung

Das EU-Projekt COBRA (*Coordinating Organic plant Breeding Activities for diversity*; www.cobra-div.eu) wurde finanziell gefördert durch den Forschungsverbund Core Organic, der Sortenanfälligkeitsversuch von der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (Bundesministerium für Ernährung und Landwirtschaft). Dank gebührt ebenfalls den Kolleginnen und Kollegen der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft für die Realisierung der Versuche.

Literatur

- BAUER R, VOIT B, KILLERMANN B, HÜLSBERGEN KJ, 2014: Infektionsfähigkeit von Steinbrand- (*Tilletia caries*) und Zwergsteinbrandsporen (*Tilletia controversa*) im Boden und Stallmist unter Berücksichtigung verschiedener Fruchtfolgen in Biobetrieben. In: Verband Deutscher Landwirtschaftlicher Untersuchungs- und Forschungsanstalten (Hrsg.), Kongressband 2013 Berlin, Untersuchen, Bewerten, Beraten, Forschen: 125 Jahre VDLUFA im Dienste von Landwirtschaft, Umwelt- und Verbraucherschutz, VDLUFA-Schriftenreihe 69: 799-803. VDLUFA Verlag, Darmstadt.
- GOATES BJ, 1996: Common bunt and dwarf bunt. In: WILCOXSON RD, SAARI EE (Eds.), Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management, pp 12-25. CIMMYT, Mexico.

Winter wheat testing for bunt resistance in the Crop Research Institute, Prague

Veronika Dumalasová^{1*}, Pavel Bartoš¹

Abstract

Common bunt and dwarf bunt may cause considerable losses of yield and seed quality of winter wheat, especially in organic farming, where chemical seed treatment is not possible. Artificial inoculation trials were performed at the Crop Research Institute, Prague, to support a potential solution through breeding for resistance. In total, 87 winter wheat genotypes were tested in 2013 and 2014. Winter wheat genotypes resistant to common bunt and dwarf bunt were identified. The incidence of common bunt exceeded 70% spikes in susceptible genotypes, thus allowing a bunt infection level <10% to be taken as limit for a resistant reaction. Dwarf bunt infection was lower even in the most susceptible genotypes. Therefore, a resistant reaction to dwarf bunt was assumed only when the level of infection was 0-0.1%.

Keywords

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

Introduction

Common bunt is caused by *Tilletia caries* (D. C.) Tul. & C. Tul. (syn. *T. tritici* (Bjerk.) G. Winter) and *T. laevis* J. G. Kühn (syn. *T. foetida* (Wallr.) Liro), dwarf bunt by *T. controversa* J. G. Kühn. The disease is controlled by chemical seed treatment and resistant cultivars. It may be also managed by means of sowing dates, crop rotations and measures to reduce airborne and soilborne inoculum.

The effectivity of host resistance has been proved during a long period of time in the USA and Canada. In northern Utah and southern Idaho, where winter wheat production would not be possible without resistance, the incidence of dwarf bunt has been successfully decreased to trace amounts, unimportant for production and quality.

European research on bunt resistance is less intensive due to the common use of effective fungicides. However, under conditions of organic farming the incidence of common bunt and dwarf bunt represents a limiting factor.

Sources of excellent resistance are required and must be effectively incorporated in future varieties. Suitable molecular markers for such effective genes for resistance to bunt are not widely used yet. The reaction of promising sources of resistance has to be verified in multiple infection tests. Several years, locations and sufficient number of diverse

prevalent bunt pathotypes has to be employed. The aim of our study is to broaden the knowledge on reaction of winter wheat genotypes to bunt infection.

Material and Methods

Common bunt inoculation for field experiments was done by shaking seed with a surplus of teliospores in Erlenmeyer flasks for 1-2 min. Inoculation and sowing (1 m long rows, 4 replications) was carried out in early October. The trials were evaluated in July and the results were expressed in percent as a diseased spikes ratio to the total number of spikes.

In 2013 and 2014 three different inoculum mixtures of common bunt teliospores were applied to the seed. Two inoculum mixtures ('mix' and 'kss') of *T. tritici* originated from various locations in the Czech Republic, one sample of *T. laevis* ('kr') originated from the locality Kroměříž.

For dwarf bunt tests 1 m long rows with 8 replications were sown to the seedbeds. One row with a susceptible winter wheat variety was inserted after every four rows to check equal distribution of infection. Teliospores were evenly spread on the soil surface after sowing. The plots were covered with white nonwoven fabric in order to improve the conditions for infection.

The virulence of particular inoculum mixtures was determined on a set of cultivars/lines possessing different *Bt* genes (GOATES 1996) kindly supplied by Dr. B. J. Goates, USDA, Aberdeen, USA.

Results and discussion

Common bunt

Using the set of differential cultivars/lines a virulent reaction to the genes *Bt2* and *Bt7* was proved in the 'kss' inoculum mixture. The inoculum mixture 'kr' displayed virulence on *Bt1* and *Bt7*. The inoculum mixture 'mix' overcame the *Bt2* and *Bt3* genes of resistance.

The ranges of disease incidence on the tested varieties were 0.0-86.5% and 0-84.4% in the years 2013 and 2014, respectively (Table 1). With only a few exceptions there was a good consistency of infection levels of the cultivars tested in the both years. Results from the resistant checks ('Globus', 'Bill') and susceptible checks ('Batis') confirmed their resistance and susceptibility, respectively, and provided confidence that the experimental data are accurate.

¹ Crop Research Institute, Drnovská 507, 16106 PRAHA-RUZYŇ, Czech Republic

* Corresponding author: Veronika DUMALASOVÁ, dumalasova@vurv.cz

Table 1: Common bunt infection levels (% bunted spikes) of winter wheat in 2013 and 2014 after artificial inoculation with different inocula (limit for resistant reaction: <10%; check varieties are printed in bold)

Genotype	2013		2014		
	mix	kr	mix	kr	kss
Susceptible reaction					
Akzento			21.2		
Alana	15.7	15.7	29.9	34.8	
Altigo	83.9				
Annie					53.6
Artist					65.2
Athlon	73.2				
Avenue					60.9
Banquet	46.9	28.7	46.4	68.9	
Batis	86.5		84.4		74.5
Beduin	65.1				
Brokat					56.6
Caroll	80.3				
Cimrmanova raná	82.4		64.2		
Citrus	73.2		81.2		
Dagmar	53.8		58.7		
Dulina	63.3		78.5		
Elan	66.8				
Etana					14.3
Evina	80.6		76.3		
Excellenz			80.0		
Fabius					44.8
Fakir					56.2
Feria	57.6				
Fermi	81.1		77.6		
Florus					42.6
Golem	54.6		52.9		
Gordian					23.8
Hanswin	43.3				
Haven	26.6				
Hermann	61.8				
Hewitt	76.4		75.6		
Chaumont	66.1				
Chevalier	46.9		66.4		
JB Asano	67.7				
Julie					59.3
KWS Ozon	62.3		70.1		
Lavantus					65.0
Manager	63.8				
Matchball					55.8
Matylda	62.3				
Mikon			37.2	26.6	
Molinera	61.5				
Nordika					39.9
Patras					39.0
Potenzial	59.0				
Princeps	77.9		48.0		
Ramiro			61.5	37.5	
Rumor					57.9
Sorrial	72.6				

Genotype	2013		2014		
	mix	kr	mix	kr	kss
Susceptible reaction					
Suretta	40.7	52.9	35.2	29.7	
Tiguan	71.6		49.7		
Tilman					20.6
Titlis	60.9	56.7	33.1	27.1	
Tobak					42.5
Tosca					70.6
Turandot	77.7		69.1		
Vanessa					62.4
Zeppelin					51.4
Variable reaction					
Alibaba	72.6	0.9	49.4	0.9	
Levis	40.3	0.5	30.3	0.0	
Sailor	22.2		0.0		
Skagen	4.4	1.4	27.0	7.3	
Togano	0.9	18.0	54.0	49.0	
Nadro	17.1	25.5	1.9	40.6	
Resistant reaction					
Bill	7.9		7.6		0.6
Genius					2.7
Globus	1.7		4.0		1.1
Quebon	2.2	0.0	6.7	0.0	
Magnifik			0.0	0.0	
Cardos			8.9	3.8	

Table 2: Dwarf bunt infection levels (% bunted spikes) of winter wheat in 2013 and 2014 (resistance reaction estimated relatively to susceptible variety Batis)

Genotype	2013	2014
Susceptible reaction		
Batis	6.4	12.1
Bohemia	15.5	15.7
Capo	10.1	20.9
CDC Raptor		24.7
Federer	15.9	10.9
Globus	4.8	7.2
Magister	7.8	17.2
Midas	14.3	35.5
Mulan	14.1	12.7
Pannonikus		36.8
Potenzial	3.4	6.8
Radiant		13.6
Rainer	17.3	22.0
Saturnus		7.2
Tommi	9.7	14.2
Resistant reaction		
Blizzard	0.0	0.0
Bonneville	0.1	0.1
Franklin	0.0	
Golden Spike	0.0	0.0
Weston	0.1	

Fifty eight genotypes were susceptible in all of our tests. Their infection level was 10-100% diseased spikes. Six genotypes displayed susceptibility only in some of the cases. In the genotypes 'Alibaba' and 'Levis' less than 10% diseased spikes occurred after infection with inoculum mixture 'kr'. A presence of a gene of resistance effective to 'kr' but susceptible to inoculum mixture 'mix' thus may be supposed. This may indicate a presence of genes *Bt1* or *Bt7* in the genotypes 'Alibaba' and 'Levis'. The differences between years noticed in the genotypes 'Sailor', 'Skagen', 'Togano' and 'Nadro' may be ascribed to the discrepancies in experimental conditions in the two subsequent years. Varieties 'Bill', 'Cardos', 'Genius', 'Globus', 'Magnifik' and 'Quebon' were resistant in our 2013 and 2014 trials, with bunt incidence below 10% diseased spikes.

Dwarf bunt

The experiments with artificial soil infestation with dwarf bunt were evaluated in seedbeds (Table 2). Bunt incidence on the set of differentials was low. The most diseased differential lines carried genes of resistance *Bt1* (8%) and *Bt9* (6.3%). The lines possessing genes *Bt8*, *Bt11* a *Bt12* were free of infection.

Bunt incidence in the tested varieties exceeded 10% diseased spikes in 12 genotypes, the highest values were recorded in 'Pannonikus' (36.8%) and 'Midas' (35.5%) in 2014. In 'Globus' which is resistant to common bunt in our trials with Czech isolates, the dwarf bunt incidence reached 7.2%. On the contrary, there are varieties susceptible to common bunt showing dwarf bunt incidence relatively low, for example 'Batis' (common bunt: 86.5% in 2013; dwarf bunt: 6.4% in 2013, 12.1% in 2014) and 'Potenzial' (common bunt: 59.0% in 2013; dwarf bunt: 3.4% in 2013, 6.8% in 2014). Resistant reaction with 0-1% diseased spikes was recorded for 'Blizzard', 'Bonneville', 'Franklin', 'Golden Spike' and 'Weston'.

Acknowledgements

The research was supported by the Ministry of Agriculture of the Czech Republic (Projects MZE0002700604 and QJ1210189).

References

- GOATES BJ, 1996: Common bunt and dwarf bunt. In: WILCOXSON RD, SAARI EE (Eds.), Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management, pp. 12-25. CIMMYT, Mexico, DF.



Strategie zur Bekämpfung des Steinbrandes (*Tilletia caries*) im Bio-Landbau Strategy to control common bunt (*Tilletia caries*) in organic farming

Hartmut Spieß^{1*}

Abstract

Common bunt (*Tilletia caries*) is the most damaging plant disease occurring in organic cultivation of cereals. However, resistance to common bunt is no criteria for the registration of new varieties and there is a lack of resistance breeding for *Triticum* and *Triticosecale* genus. Only few resistant varieties are available. Seed treatments approved in organic agriculture are limited, agronomic measures to prevent infection show unsatisfactory results and soil infections often increase the problem. On this background 'Forschung & Züchtung Dottenfelderhof' started in the early 1980s to develop strategies to control common bunt. Prophylactic agronomic measures were evaluated and in cooperation with the Dr. Schaeffe AG, Bad Waldsee, the preparation Tillecur[®] was developed. It was the first biologic seed treatment preparation and it was approved as 'plant strengthener' for organic agriculture. In the following a resistance breeding programme was started, first for winter wheat and later on for spring wheat. Therefore, pre-breeding projects were necessary to evaluate a wide range of varieties and genebank accessions for resistance to common bunt. So far, 860 winter wheat cultivars/lines have been tested in the last 20 years with the local common bunt. Only 16 showed no infection. Among the 177 registered varieties that are currently available in Germany, Austria and Switzerland only three showed no infection and nine indicated a very low level of infection. The examination of 33 currently approved spring wheat varieties revealed three resistant varieties and eight with a very low susceptibility. But most of them showed low suitability for organic production.

Keywords

resistance breeding, seed dressing, *Triticum aestivum*

Einleitung

Weizenstein- oder Stinkbrand (*Tilletia tritici*; syn. *T. caries*) gilt im Ökologischen Landbau als die wichtigste Getreidekrankheit. Als vorwiegend saattgutbürtiger Pilz befällt der Weizensteinbrand alle Arten der Gattung *Triticum* und auch *Triticosecale*. Der seit dem Altertum bekannte Brand

der Ähre führte vor der Einführung von Saatgutbeizen zu erheblichen Ertragsseinbußen, aber auch durch die Giftigkeit der Sporen (Trimethylamin) zu Erkrankungen von Mensch und Tier, nicht selten mit Todesfolge. Erst mit Einführung der Warm- und Heißwasser- sowie der Quecksilberbeize wurde der Verbreitung des Steinbrandes nachhaltig Einhalt geboten. 1984 wurde die giftige Beize mit Quecksilber verboten und durch chemisch-synthetische Fungizide ersetzt. Deren Einsatz ist im Bio-Landbau nicht erlaubt, weshalb sich der Brand mit zunehmender Ausdehnung der ökologischen Bewirtschaftung ausweitete. In den vergangenen Jahren wurden daher verschiedenste ältere und neuere Verfahren zur Stinkbrand-Bekämpfung wissenschaftlich untersucht (SPIESS und DUTSCHKE 1991, WILBOIS et al. 2007). In wenigen Betrieben wurden die Warm- oder Heißwasserbeize eingesetzt, welche bei exakter Anwendung hohe Wirkungsgrade erreichen können. Die Technik für diese Beizen ist kaum noch vorhanden, weshalb sie heute selten angewendet wird. Auch neue Verfahren mit der Behandlung des Saatgutes mit Heißluft (Thermoseed[®]) oder Dampf ('Steamlab') haben sich wegen zu hoher Kosten nicht durchgesetzt. Demgegenüber kommt die Bürstmaschine der Fa. Westrup (DK), die einen hohen Wirkungsgrad bei der Sporentfernung vom Korn erreicht, häufiger zum Einsatz. Die Anwendung der 'Elektronenbeize' ist im Bio-Landbau umstritten und hat nur geringe Bedeutung erlangt. Zahlreiche Ansätze zur Entwicklung von Öko-Richtlinien konformen Saatgutbehandlungsmitteln wie Magermilchpulver, Meerrettich, Essigsäure, Kompostextrakte oder Senfmehl führten lediglich in letzterem Fall zu einem Handelsprodukt, Tillecur[®]. Zudem wurden Präparate auf Basis antagonistisch wirkender Bodenbakterien entwickelt, die, wie Cerall[®] (Intrachem Bio Deutschland GmbH, Bad Camberg) bei Steinbrand zum Einsatz kommen können (KOCH et al. 2006).

In der Praxis des Bio-Landbaues steht die Beachtung prophylaktischer Maßnahmen im Vordergrund. Zu deren Umsetzung sind von Seiten der Forschung und Beratung Maßnahmenkataloge für die Praxis erstellt worden (SPIESS 2006), wobei auf die relevanten Punkte noch einzugehen sein wird. Nicht zuletzt wurde von einigen Züchtern wie auch vom Autor die Entwicklung Steinbrand-resistenter Sorten aufgegriffen, da dies die nachhaltigste Form der

¹ Forschung & Züchtung Dottenfelderhof (LBS Dottenfelderhof eV), Holzhausenweg 7, 61118 BAD VILBEL, Deutschland

* Ansprechpartner: Hartmut SPIESS, h.spieess@dottenfelderhof.de

Kontrolle des Steinbrandes im Bio-Landbau darstellt. Als Voraussetzung dafür wurde im Rahmen von verschiedensten Pre-breeding Projekten die Evaluierung von Sorten auf Brandresistenzen begonnen (SPIESS 2003, WÄCHTER et al. 2007). Bei Beginn der Züchtungsarbeiten stand lediglich eine Sorte ('Tambor') mit Brandwiderstandsfähigkeit im damaligen Winterweizensortiment für eine effektive Züchtungsarbeit zur Verfügung. Eine zusammenfassende Darstellung der hier behandelten Problematik findet sich in FISCHER et al. (2002).

Material und Methoden

Versuche zur Steinbrandbekämpfung

In den vergangenen drei Jahrzehnten wurden die in der landwirtschaftlichen Praxis angewendeten Verfahren zur Bekämpfung des Steinbrandes auf ihre Wirksamkeit in randomisierten Feldversuchen mit 6 m² großen Parzellen in dreifacher Wiederholung untersucht. Standort war der nach Richtlinien des Öko-Landbaus zertifizierte Dottenfelderhof (Bad Vilbel). Geprüft wurden sowohl thermische Verfahren wie Warm- und Heißwasserbeizung sowie Saatgutbehandlungen mit mineralischen (Kalk, Holzasche) sowie organischen Hilfsstoffen (Jauche, pflanzliche Mehle), Medizinalpflanzen (Meerrettich, Senf) und Handelsprodukten auf pflanzlicher (Tillecur[®], Milsana[®], Lebermooser u.a.) oder mikrobieller Basis (FZB 24, Serenade, Cedomon, Cerall, Biopro u.a.). Die Anwendungsmengen orientierten sich an Herstellerangaben oder lagen im Bereich von 50 g oder 50 ml je kg Saatgut.

Widerstandsfähigkeit von Sorten und genetischen Ressourcen

Die Resistenzuntersuchungen der Sorten wurden grundsätzlich unter Feldbedingungen in Kleinparzellen von 2,25 m² mit maximal drei Wiederholungen vorgenommen. Die künstliche Inokulation des Saatgutes mit Steinbrand erfolgte entsprechend der Richtlinie zur Prüfung von Beizmitteln mit 2 g Sporen pro kg Saatgut, was etwa 20000 Sporen pro Korn entspricht. Verwendet wurde das lokale *T. caries* Inokulum. Zum Zeitpunkt der Weizen-Blüte wurden die erkrankten Pflanzen und die Bestandesdichte ausgezählt und daraus der Befall in Prozent ermittelt. Zur Einschätzung des Befallsniveaus, welcher starken Jahresschwankungen unterliegt, wurden Check- sowie Referenz-Sorten in die Prüfsortimente gestellt. Sorten, die <10% Befall zeigten, wurden zur Überprüfung des Ergebnisses über einen Zeitraum von vier Jahren getestet. Die Prüfung von Zuchtstämmen ab der F₇ auf rassenspezifische Resistenz wurde im Rahmen des *European Tilletia Ringtest* (MASCHER et al. 2014) und in Kooperation mit Veronika Dumalasoová und Pavel Bartoš (Crop Research Institute, Praha-Ruzyne) vorgenommen. Bei den Sommerweizen, die aufgrund der Anbaubedingungen im Frühjahr (Tageslänge, Temperatur) in der Regel deutlich weniger befallen werden, wurde zusätzlich zur Prüfung im Frühjahr eine parallele Herbstsaat vorgenommen. Dabei zeigte sich erwartungsgemäß eine signifikant höhere Befallsrate.

Ergebnisse und Diskussion

Steinbrand-Prophylaxe

Zunächst soll auf die Möglichkeiten vorbeugender Maßnahmen geblickt werden, die in der wissenschaftlichen Literatur belegt sind und gleichzeitig den derzeitigen Stand der Beratung in der Praxis abbilden. Die nachfolgende Zusammenstellung fasst die relevanten Punkte für eine erfolgreiche Steinbrand-Prophylaxe zusammen:

1. Mehr als drei bis vier Jahre Anbauabstand bei Weizen, Dinkel, Emmer, Einkorn und Triticale.
2. Pflege der Feldraine. Mahd vor Abreife der Gräser, die eine Infektionsquelle darstellen.
3. Optimierung von Saatzeit, Saattiefe (flach) und Bodenzustand: Bei schneller Keimung wächst die Pflanze der Infektion davon.
4. Hohe biologische Aktivität des Bodens durch intensive organische Düngung anstreben; wirkt im Boden phytosanitär. Sowohl im Stallmist als auch in Biogasanlagen wird das Sporenpotenzial signifikant vermindert.
5. Gute Saatgutqualität: Hohe Keimfähigkeit, große Tausendkorntmasse, hohe Nährstoffgehalte (N, P) verbessern Feldaufgang, Keimschnelligkeit und Widerstandsfähigkeit.
6. Obligatorische Saatgutuntersuchung: Nur Aussaat von Saatgut, welches auf Sporenbesatz untersucht ist. Im Öko-Landbau gilt bei Z-Saatgut die Obergrenze von 20 Sporen pro Korn.
7. Saatgutbehandlung ab einem Besatz von einer Spore/Korn. Empfohlene Beizmittel: Tillecur[®], Cerall[®] oder Saatgutbürsten.
8. Bei Befallssituation im Betrieb Aussaat widerstandsfähiger Sorten (z.B. 'Butaro', 'Florian'). Ausweichfrucht Dinkel (nicht entspelzt) oder Sommerweizen, welche gegenüber Winterweizen weniger befallen werden; Anbau resistenter Sommerweizen (z.B. 'Michael').
9. Feldbesichtigung zum Zeitpunkt der Weizenblüte, um bei Befall Strategie zur Brandreduzierung vorzubereiten. Befall ist an fehlenden Antheren und gespreizten, bläulich gefärbten Ährchen zu erkennen. Zur Kontrolle Ährchen mit Schere aufschneiden. Bei Befall findet sich stinkende schwärzliche Sporenmasse. Achtung: Es kommt auch partieller Ährenbefall vor.
10. Kontrolle der Mähdrusch auf Verunreinigung mit Brandsporen, vor allem bei Lohndrusch.
11. Nach Feldbefall tiefer pflügen, damit Sporen 'vergraben' werden; in den Folgejahren flacher bearbeiten. Steinbrand-Sporen sind ca. vier bis fünf Jahre im Boden überlebensfähig, Zwergsteinbrand zehn Jahre. Je höher die biologische Aktivität des Bodens, desto höher sein antiphytopathogenes Potential und damit die Sporenreduzierung.
12. Brandsporen sind giftig (Trimethylamin)! Stark mit Sporen befallenes Korn nicht verarbeiten und nicht verfüttern, Stroh nicht verfüttern. Die Höhe des

‘Schwarzbesatzes’ darf bei Saatgut 0,5 Gew.-%, bei Futtermitteln 0,3 Gew.-% nicht überschreiten.

13. Aktuell wird das Verfahren der Biofumigation zur Reduzierung des Sporenpotenzials im Boden erprobt. Dabei werden Senfölglykosid-haltige Zwischenfrüchte wie Senf oder Ölrettich in den Boden eingemulcht. Bisher wurden jedoch noch keine zufriedenstellenden Resultate erzielt, weswegen diese Fragestellung experimentell weiter bearbeitet werden sollte.

Saatgutbehandlungen zur Steinbrandbekämpfung

Bezüglich der Saatgutbehandlung sind neben dem oben genannten effektiven Verfahren des Abbürstens der Sporen vom Korn mit einer Bürstmaschine (Westrup A/S, Slagelse, Dänemark) (VOGT-KAUTE et al. 2007) lediglich zwei Beizen empfehlenswert. Zum einen hat sich in Versuchen gezeigt, dass flüssige Verarbeitungen von Meerrettichpulver und Senfmehl sehr stark phytosanitär wirken und hohe Wirkungsgrade in der Vorbeugung von Steinbrandbefall erzielen. Da Meerrettich (*Armoracia rusticana*) bei Luftzutritt das hochgiftige Allylsenföl entwickelt, kam dieses für ein Behandlungsmittel nicht infrage, obwohl hier die besten Wirkungsgrade gemessen wurden, ohne dass phytotoxische Einflüsse auftraten. Daher wurden die Arbeiten zur Entwicklung eines Saatgutbehandlungsmittels auf Gelbsenf (*Sinapis alba*) konzentriert. Auf dieser Basis unter Zuhilfenahme von Formulierungshilfsstoffen wurde das Pflanzenstärkungsmittel Tillecur® auf den Markt gebracht.

Mit dem Präparat Cerall® liegt das einzige zugelassene Pflanzenschutzmittel auf Basis des Bodenbakteriums *Pseudomonas chlororaphis* vor, welches zur Behandlung gegen Steinbrand im Bio-Landbau eingesetzt werden darf. Beide Mittel waren mehrfach Untersuchungsgegenstand, u.a. in einem Beizversuch des Landesbetriebs Landwirtschaft Hessen (LLH). Die Wirkung der beiden Mittel auf die Bestandesdichte und den Befall von Winterweizen in Abhängigkeit vom Sporenbefall ist *Tabelle 1* zu entnehmen. Eine Förderung der Keimung des Getreides ist bei Cerall offensichtlich, was scheinbar einen Teil der Wirkung der

Tabelle 1: Wirkung von Saatgutbehandlungen mit Tillecur® und PSM Cerall® auf Bestandesdichte und Steinbrandbefall von Winterweizen (LLH Frankenhausen 2008-09; 1 kg Tillecur + 5 L Wasser pro 100 kg Saatgut; 1 L Cerall pro 100 kg Saatgut) (Quelle: SCHMIDT 2009)

Table 1: Effect of seed treatments using Tillecur® and Cerall® on number of fertile tillers per m² and number of bunt infected spikes per m² of winter wheat (LLH Frankenhausen 2008-09; 1 kg Tillecur + 5 L water per 100 kg seeds; 1 L Cerall per 100 kg seeds) (Source: SCHMIDT 2009)

Sorte/ Behandlung	Anzahl Ähren/m ²	Befallene Ähren/m ²	Befall (%)	Wirkungsgrad (%)
Gemenge ¹ – keine Behandlung	446	187,0	41,8	-
Gemenge – Cerall	476	45,0	9,5	77,3
Gemenge – Tillecur	455	1,7	0,4	99,0
Bussard – keine Behandlung	491	8,0	1,63	-
Bussard – Cerall	572	0,6	0,11	93,8
Bussard – Tillecur	537	0,0	0,00	100,0

¹ Gemenge (‘Bussard’, ‘Capo’, ‘Achat’): 1100 Sporen/Korn; ‘Bussard’: 19 Sporen/Korn

begrenzten Befallsverminderung des Mittels ausmacht. Demgegenüber erreicht Tillecur Wirkungsgrade von 99 bzw. 100%. Beide Mittel erfordern in der Feucht-Anwendung bezüglich Aufwandmenge und Lagerung des gebeizten Saatgutes sehr genaues Arbeiten. Bei Bodeninfektion ist die Wirksamkeit der Mittel deutlich eingeschränkt. Daher ist zu fordern, dass an der Entwicklung wirksamer, anwenderfreundlicher Saatgutbehandlungsmittel für den Bio-Landbau grundsätzlich geforscht wird, was derzeit nicht ausreichend geschieht.

Züchtung von Brand-resistenten Sorten

Im Rahmen der Sortenanerkennung sind keine Untersuchungen auf Anfälligkeit gegenüber Brand- und anderen saatgutübertragbaren Krankheiten vorgesehen. Daher ist mit Ausnahme wissenschaftlicher Untersuchungen nicht bekannt, ob sich Brand-resistente Sorten in den Weizen-Sortimenten finden. Erste Evaluierungen eines eingeschränkten Sortimentes auf Steinbrand-Widerstandsfähigkeit wurden im Rahmen des Öko-Landbaus von PIORR (1991) vorgenommen. Keine der 45 untersuchten Winterweizensorten blieb ohne Befall. Mit Blick auf die Entwicklung Brand-resistenter Sorten war daher zunächst notwendig, aktuelle Sortimente sowie Genbank-Akzessionen auf Brand-Anfälligkeit zu evaluieren und ein Brand-Resistenzsortiment aufzubauen. Für die Kreuzungsarbeiten wurden zunächst Kultursorten präferiert, um möglichst schnell resistente Sorten verfügbar zu haben. Bis dato wurden insgesamt 860 Winter- bzw. 470 Sommerweizen-Sorten und Genotypen/Akzessionen internationaler Herkunft ein- oder mehrjährig geprüft. Davon wurden lediglich 16 Kultursorten bei Winterweizen als befallsfrei getestet, bei Sommerweizen waren es mit 69 Linien deutlich mehr. In *Abbildung 1* findet sich die Zusammenstellung der Steinbrand-Anfälligkeit aktuell verfügbarer zugelassener Sorten. Wegen der großen Anzahl von 177 Winterweizen wird auf die Nennung aller Sorten verzichtet. Bei einer Testung länger als 4 Jahre enthalten die Befallgruppen folgende Sorten: (i) resistent: ‘Floriant’, ‘Intro’ und ‘Kredo’; (ii) sehr gering anfällig: ‘Alatus’, ‘Butaro’, ‘Genius’, ‘Matrix’, ‘Memory’, ‘Sailor’, ‘Tommi’, ‘Winnetou’ und ‘Zobel’; (iii) Befall von 2-8%: ‘Albertus’, ‘Brutus’, ‘Famulus’, ‘Hermann’, ‘Jafet’, ‘Kurt’, ‘Manager’, ‘Nelson’, ‘Pionier’, ‘Premio’, ‘Primus’, ‘Skagen’, ‘SY Ferry’, ‘Türkis’, ‘Xenos’ und ‘Zappa’; (iv) 85% der geprüften Sorten erwiesen sich als mehr oder weniger stark anfällig und scheiden für Resistenzkreuzungen aus.

Mittlerweile liegen mehrere Untersuchungen zur Steinbrand-Anfälligkeit mit Angaben zur Sortenevaluierung und Verfügbarkeit von Resistenzgenen bei Winterweizen vor (BLAŽKOVÁ und BARTOŠ 2002, DUMALASOVÁ und BARTOŠ 2006, WÄCHTER et al. 2007, MATANGUIHAN et al. 2011, GOATES 2012, DUMALASOVÁ et al. 2014). In eigenen Untersuchungen des Differenzialsortiments von GOATES (1996)

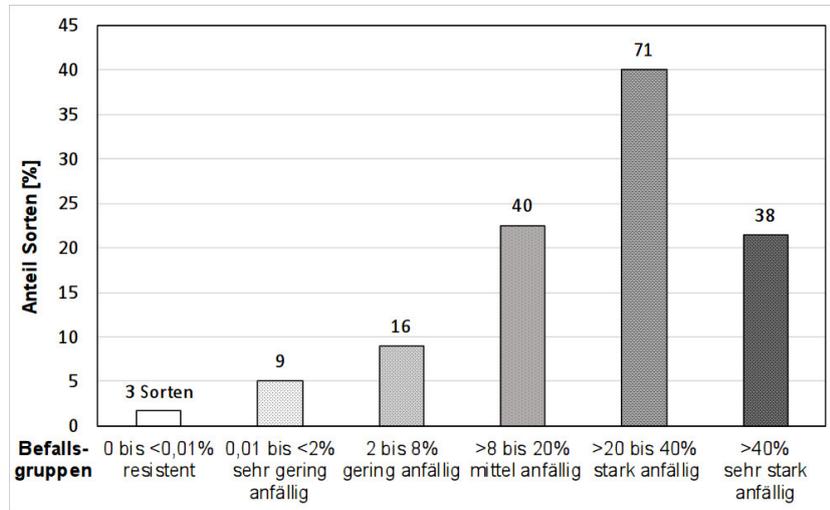


Abbildung 1: Anfälligkeit von 177 aktuell zugelassenen Winterweizen bei Inokulation mit 2 g *Tilletia caries* Sporen/kg Saatgut (Herkunft Dottenfelderhof, Bad Vilbel; Stand: 2014)

Figure 1: Susceptibility of 177 winter wheat cultivars to artificial inoculation with 2 g *Tilletia caries* spores/kg seeds (Origin Dottenfelderhof, Bad Vilbel; Status: 2014)

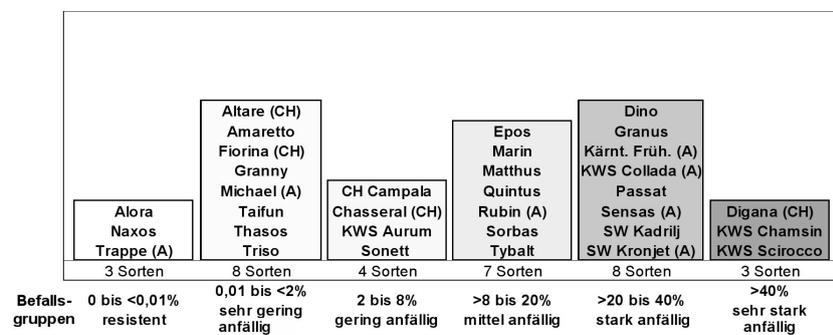


Abbildung 2: Anfälligkeit von 33 aktuell zugelassenen Sommerweizen bei Inokulation mit 2 g *Tilletia caries* Sporen/kg Saatgut (Herkunft Dottenfelderhof, Bad Vilbel; Stand: 2014)

Figure 2: Susceptibility 33 spring wheat cultivars to artificial inoculation with 2 g *Tilletia caries* spores/kg seeds (Origin Dottenfelderhof, Bad Vilbel; Status: 2014)

deckten sich die erzielten Resultate mit denen der Literatur. Danach erwiesen sich als vollständig resistent die Bt-Gene *Bt11* und *Bt12*. Diese wurden bereits erfolgreich in das eigene Material eingekreuzt.

Bei Sommerweizen heben sich die Resultate der Evaluierung erfahrungsgemäß von denen des Winterweizens deutlich ab, obwohl die Tests sowohl bei Herbst- als auch bei Frühjahrsaussaat durchgeführt wurden. In *Abbildung 2* sind die geprüften, derzeit verfügbaren zugelassenen Sorten in Abhängigkeit von Befallsklassen zusammengestellt. Danach sind annähernd die Hälfte der Sorten für Resistenzkreuzungen sehr gut (Befall 0 bis <0,01%), gut (0,01 bis <2%) oder bedingt geeignet (2 bis <8%). Mit dem Resistenzgen *Bt14* in 'Doubbi' steht eine wichtige Resistenzquelle für Sommerweizen zur Verfügung, auch wenn diese Landrasse über keine brauchbaren agronomischen Eigenschaften verfügt. Das Vorgehen in der Brand-Resistenzzüchtung der 'Forschung und Züchtung Dottenfelderhof' (FZD) wird anhand des Pedigree-Schaubildes in *Abbildung 3* dargestellt. In

der Regel werden Doppelkreuzungen mit verschiedenen Brandresistenzen angelegt. Wenn es sich um Resistenzquellen aus Landsorten oder Genbank-Akzessionen handelt, sind mehrere Rückkreuzungen zur Etablierung der relevanten Eigenschaften von Kultursorten erforderlich. Bereits in der F_2 wird der Ramsch mit 2000 Sporen/Korn inokuliert, um bei der Selektion hoch anfällige Typen ausscheiden zu können. Ab der F_3 bis zur F_5 werden die Einzelähren mit rd. 20000 Sporen/Korn inokuliert und nur die Ähren-Nachkommenschaften weitergeführt, welche weniger als fünf Brandähren bei guten agronomischen Eigenschaften aufweisen. In der F_8 wird eine nochmalige Prüfung der Steinbrand-Anfälligkeit in Parzellen vorgenommen.

Unter den vielen Eigenschaften, die eine Getreidesorte mit Eignung für den Bio-Landbau auszeichnen sollen (KÖPKE 2006), steht die Resistenz gegenüber Flugbrand (*Ustilago tritici*) an oberer Stelle. Diese wird entsprechend im Zuchtschema berücksichtigt (*Abbildung 3*). Hier sind aufwändige Sporen-Inokulationen der einzelnen Blüten vorzunehmen, die aber erst mit Erreichen eines ausreichenden Homozygotiegrades ab der F_5 erfolgen und bis zur F_7 beibehalten werden. Die Flugbrand-Widerstandsfähigkeit stellt im Bio-Landbau nicht nur bei Weizen, sondern mehr noch bei Gerste und Hafer ein wichtiges Kriterium dar, weil keine effektiven Bekämpfungsmöglichkeiten verfügbar und nur wenige resistente Sorten vorhanden sind.

Ein weiteres Ziel der Sortenentwicklung in der FZD besteht in der Etablierung von Resistenzen gegenüber Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*), welcher sich zur Zeit geographisch ausbreitet und wegen seiner vorwiegenden Infektion über den Boden deutlich schwerer als Steinbrand zu bekämpfen ist. Perspektivisch ist angestrebt, Sortengemenge und Mehrliensorten bzw. *Composite Cross Populations* (CCP) unter Verwendung verschiedener Brand-Resistenzquellen zu entwickeln, um einem Durchbrechen monogenetisch verankerter Resistenzen vorzubeugen. Das setzt allerdings voraus, dass CCP künftig verkehrsfähig werden.

Danksagung

Für die langjährige Unterstützung der Resistenz-Züchtungsforschung zu Brandkrankheiten bei Getreide dankt der Autor den Institutionen BLE im BÖLN, Bonn; MAHLE-Stiftung, Stuttgart; Software AG-Stiftung, Darmstadt; Saatgutfonds der GLS-Treuhand, Bochum; Landwirtschaftliche Rentenbank, Ffm.; Göhre-Stiftung, Ffm. und Kurt & Christoph Eisele-Stiftung, Darmstadt sowie für die gedeihliche Zu-

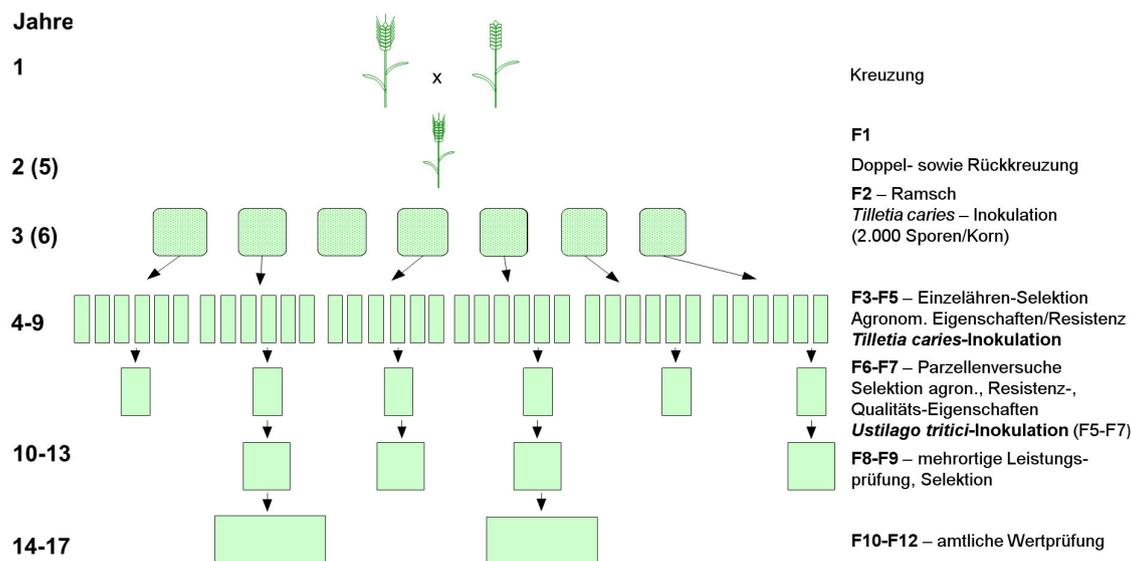


Abbildung 3: Zuchtschema (Pedigree-Methode) der Stein- und Flugbrand-Resistenzzüchtung bei Weizen
 Figure 3: Breeding scheme (pedigree method) of common bunt and smut resistance breeding in wheat

sammenarbeit den Kooperationspartnern des JKI Darmstadt und Kleinmachnow.

Literatur

BLAŽKOVÁ V, BARTOŠ P, 2002: Virulence pattern of European bunt samples (*Tilletia tritici* and *T. laevis*) and sources of resistance. *Cereal Res Commun* 30: 335-342.

DUMALASOVÁ V, BARTOŠ P, 2006: Resistance of winter wheat cultivars to common bunt, *Tilletia tritici* (Bjerk.) Wint. and *T. laevis* Kühn. *J Plant Dis Prot* 113: 159-163.

DUMALASOVÁ V, LEIŠOVÁ-SVOBODOVÁ L, BARTOŠ P, 2014: Common bunt resistance of Czech and European winter wheat cultivars and breeder lines. *Czech J Genet Plant Breed* 50: 201-207.

FISCHER K, SCHÖN CC, MIEDANER T, 2002: Chancen der Resistenzzüchtung gegen Brandpilze bei Weizen für den ökologischen Pflanzenbau. Landessaatzuchtanstalt, Universität Hohenheim, Stuttgart.

GOATES BJ, 1996: Common bunt and dwarf bunt. In: WILCOXSON RD, SAARI EE (Eds), *Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management*, pp 12-25. CIMMYT, Mexico, D.F. [http://repository.cimmyt.org/xmlui/bitstream/handle/10883/1211/61965.pdf; accessed 23 Jan 2015].

GOATES BJ, 2012: Identification of new pathogenic races of common bunt and dwarf bunt fungi, and evaluation of known races using an expanded set of differential wheat lines. *Plant Dis* 96: 361-369. DOI: 10.1094/PDIS-04-11-0339.

KOCH E, WEIL B, WÄCHTER R, WOHLLEBEN S, SPIESS H, KRAUTHAUSEN HJ, 2006: Evaluation of selected microbial strains and commercial alternative products as seed treatments. *J Plant Dis Protect* 113: 150-158.

KÖPKE U, 2006: Welchen Beitrag könnte die Pflanzenzüchtung für die Ertragssicherheit im Ökologischen Landbau leisten? Vortrag, Rundgespräch "Ökologischer Landbau", Senatskommission für Stoffe und Ressourcen in der Landwirtschaft, Wissenschaftsforum, 11. Sept., Berlin.

MASCHER F, AL-MAROOF EM, BABAYANTS O, BUERSTMAYER H, DU CHEYRON P, DUMALASOVA V, GOATES B, JALLI M, KLAUSE S, KUNZ P, LIATUKAS Z, MÜLLER KJ, SPIESS H, VOGELGSANG S, ITTU M, 2014: Outcome of the European

Tilletia Ringtest (ETR) between 2007 and 2010. The XVIII Biennial International Workshop on the Smuts and Bunts, 3-5 Feb, Abstracts, p 14. [http://www.agrologica.dk/publikationer/BuntSmutProgramme.pdf; accessed 19 Jan 2015].

MATANGUIHAN JB, MURPHY KM, JONES SS, 2011: Control of common bunt in organic wheat. *Plant Dis* 95: 92-103. DOI: 10.1094/PDIS-09-10-0620.

PIORR HP, 1991: Bedeutung und Kontrolle saatgutübertragbarer Schadreger an Winterweizen im Organischen Landbau. Dissertation, Universität Bonn.

SCHMIDT R, 2009: Pflanzenbehandlungsmittel gegen Weizensteinbrand zeigen gute Wirkung. *Öko-Beratungs-Fax* 29/2009, Landesbetrieb Landwirtschaft Hessen.

SPIESS H, 2003: Stand der Weizensteinbrandbekämpfung im Ökologischen Landbau. In: FREYER B (Hrsg.), *Ökologischer Landbau der Zukunft, Beiträge zur 7. Wissenschaftstagung zum Ökologischen Landbau*, pp 565-566. Institut für Ökologischen Landbau, Universität für Bodenkultur, Wien.

SPIESS H, 2006: Getreidebrand nachhaltig kontrollieren. *Ökologie & Landbau* 138 (2): 26-28.

SPIESS H, DUTSCHKE J, 1991: Bekämpfung des Weizensteinbrandes (*Tilletia caries*) im Biologisch-Dynamischen Landbau unter experimentellen und praktischen Bedingungen. *Gesunde Pflanzen* 8: 264-269.

VOGT-KAUTE W, SPIESS H, JAHN M, WALDOW F, KOCH E, WÄCHTER R, MÜLLER KJ, WILBOIS KP, 2007: Physikalische Verfahren zur Behandlung von Saatgut im ökologischen Anbau. In: ZIKELI S, CLAUPEIN WC, DABBERT S, KAUFMANN B, MÜLLER T, VALLE ZARATE A (Hrsg.), *Zwischen Tradition und Globalisierung, Beiträge zur 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau*, pp 393-396. Verlag Dr. Köster, Berlin.

WÄCHTER R, WALDOW F, MÜLLER KJ, SPIESS H, HEYDEN B, FURTH U, FRAHM J, WENG W, MIEDANER T, STEPHAN D, KOCH E, 2007: Charakterisierung der Resistenz von Winterweizensorten und -zuchtlinien gegenüber Steinbrand (*Tilletia tritici*) und Zwergsteinbrand (*T. controversa*). *Nachrichtenbl Deut Pflanzenschutz* 59: 30-39.

WILBOIS KP, VOGT-KAUTE W, SPIESS H, JAHN M, KOCH E, 2007: Leitfaden Saatgutgesundheit im Ökologischen Landbau – Ackerkulturen. FiBL Deutschland e.V., Frankfurt. [http://orgprints.org/11674/; accessed 19 Jan 2015].



Mapping dwarf bunt resistance in winter wheat

Almuth Elise Muellner^{1*}, Herbert Huss², Hermann Buerstmayr¹

Abstract

During the last two decades, bunt diseases have re-emerged in organic winter wheat throughout Europe. Currently, no bunt resistant and adapted varieties are available for organic farming in Austria. Whereas the predominantly seed-borne disease common bunt (*Tilletia tritici*, *T. laevis*) can be managed by careful seed hygiene, control of the soil-borne dwarf bunt (*T. controversa*) is more challenging: Dwarf bunt teliospores are long-lived and contaminated soils cannot be used for organic winter wheat production for a minimum of 10 years. Host resistance therefore constitutes the most important tool for bunt control in organic farming. Breeding for bunt resistance is time and cost intensive and molecular marker technology could greatly facilitate the development of resistant winter wheat varieties. Knowledge regarding the genetic basis of bunt resistance, however, is limited and little is known about the interaction between dwarf and common bunt resistance. Monogenic, race specific bunt resistance in winter wheat is conferred by 13 to date identified bunt resistance genes *Bt1* to *Bt13*, of which seven have been allocated to individual wheat chromosomes. Molecular markers are available for *Bt10* only. Quantitative, non-race specific bunt resistance has also been described in winter wheat.

Ten mapping populations, based on crosses between bunt resistant exotic material (Turkish landraces and North American cultivars) and susceptible but adapted winter wheat cultivars were developed; these will be tested for bunt resistance in field trials at multiple sites for three years from 2014 to 2016. In contrast to common bunt, dwarf bunt disease development depends on favourable weather conditions during winter: multiple years of testing are therefore required to assess the resistance phenotype. In 2014, the mapping populations were tested at two sites in Austria for dwarf bunt resistance but overall infection levels were too low to gain informative results. A subset of the populations was tested for common bunt resistance and highly informative results were collected already in the first year of testing. All parental lines were tested at additional sites in the Czech Republic and Germany for dwarf bunt and in Sweden for common bunt resistance, i.e. resistant parental lines, representing monogenic (*Bt11*, *Bt12*) as well as com-

plex sources of resistance, conferred durable protection against a broad spectrum of bunt races across locations. The set of bunt differential lines - of which each contains one of the 13 *Bt* genes - was tested at all trial sites for dwarf bunt and common bunt resistance. Of these, only *Bt11* and *Bt12* conferred stable resistance against dwarf bunt and common bunt at the same time. In 2015 and 2016 all mapping populations will be tested for dwarf bunt and common bunt resistance in field trials located in Austria. In addition, populations will be tested for dwarf bunt resistance in Utah (Logan, USA). The most promising populations with regard to differentiation of the resistance trait will be genetically fingerprinted using genotyping by sequencing (GBS). Combined statistical analysis of phenotypic and genotypic data will identify genes (QTL) for durable bunt resistance in winter wheat, and will allow the development of molecular markers for application in organic wheat breeding.

Keywords

Breeding, disease resistance, marker assisted selection, *Tilletia* sp., *Triticum aestivum*

Acknowledgments

The project *COBRA Austria* is funded within the framework of the ERA-Net project Core Organic 2 by the Austrian Federal Ministry of Agriculture, Forestry, Environment and Water Management (project number 100898). We highly appreciate ongoing collaboration with the following COBRA partners regarding bunt resistance field trials: Veronika Dumalasova (Crop Research Institute, CZ), Robert Bauer, Berta Killermann, Benno Voit (LFL Bayern, DE), Inger Ahman (Swedish University of Agricultural Sciences, SE). We are grateful for excellent technical support at experimental stations in Tulln (Matthias Fidesser, Lisa-Maria Schmid, IFA Tulln), Schönfeld (Ferdinand Klinger, Christian Auer-Wallisch, AGES) and Lambach (Manfred Pamminger, Angelika Schneider, HBLFA Raumberg-Gumpenstein).

References

FOFANA B, HUMPHREYS DG, CLOUTIER S, McCARTNEY CA, SOMERS DJ, 2008: Mapping quantitative trait loci controlling com-

¹ Institute for Biotechnology in Plant Production, University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna, Konrad Lorenz Straße 20, 3430 TULLN, Austria

² HBLFA Raumberg-Gumpenstein, Außenstelle Lambach, Gmundnerstraße 9, 4651 STADL-PAURA, Austria

* Corresponding author: Almuth Elise MUELLNER, almuth-elise.muellner@boku.ac.at

- mon bunt resistance in a doubled haploid population derived from the spring wheat cross RL4452×AC Domain. *Mol Breed* 21: 317-325. DOI: 10.1007/s11032-007-9131-9.
- GOATES BJ, BOCKELMAN H, 2012: Identification of new sources of high levels of resistance to dwarf bunt and common bunt among winter wheat landraces in the USDA-ARS National Small Grains Collection. *Crop Sci* 52: 2595-2605. DOI: 10.2135/cropsci2012.01.0060.
- LAROCHE A, DEMEKE T, GAUDET DA, PUCHALSKI B, FRICK M, MCKENZIE R, 2000: Development of a PCR marker for rapid identification of the *Bt-10* gene for common bunt resistance in wheat. *Genome* 43: 217-223. DOI: 10.1139/G99-113.
- MATANGUIHAN J, MURPHY K, JONES S, 2011: Control of common bunt in organic wheat. *Plant Dis* 95: 92-103. DOI: 10.1094/PDIS-09-10-0620.