

# Tagungsband

## 58. Tagung

20. - 22. November 2007

FORTSCHRITTE IN DER SAATGUTTECHNOLOGIE  
UND -UNTERSUCHUNG -  
ERTRAGSORIENTIERTE ZÜCHTUNGSSTRATEGIEN  
FÜR NEUE VERWERTUNGSMÖGLICHKEITEN

Vereinigung der Pflanzenzüchter  
und Saatgutkaufleute Österreichs

# **58. Tagung**

**20.-22. November 2007**

FORTSCHRITTE IN DER SAATGUTTECHNOLOGIE  
UND -UNTERSUCHUNG

ERTRAGSORIENTIERTE ZÜCHTUNGSSTRATEGIEN  
FÜR NEUE VERWERTUNGSMÖGLICHKEITEN

Lehr- und Forschungszentrum für  
Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

## **Impressum**

### **Tagungsband der 58. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs**

**20.-22. November 2007, Raumberg-Gumpenstein**

#### *Herausgeber*

Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs  
Wiener Straße 64, A-3100 St. Pölten  
Tel: (+43)02742/259-9021, Fax: (+43)02742/259-2009  
email: [office@saatgut-oesterreich.at](mailto:office@saatgut-oesterreich.at); [www.saatgut-oesterreich.at](http://www.saatgut-oesterreich.at)

#### *Für den Inhalt verantwortlich*

die Autoren

#### *Redaktion*

Dr. Anton Brandstetter, o.Univ.Prof. Dr. Peter Ruckenbauer, Angelika Trischler  
Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs

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

Univ.Do. Dr. Karl Buchgraber  
Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

#### *Layout*

Brunhilde Egger  
Institut für Pflanzenbau und Kulturlandschaft  
Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein

#### *Druck, Verlag und © 2008*

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

ISBN-13:978-3-902559-11-1  
ISSN: 1818-7722

# Inhaltsverzeichnis

<b>In memoriam Prof. Dr. Dr. hc. Klaus-Ulrich HEYLAND, Prof. Dr. Dr. hc. F. Wolfgang SCHNELL und Ing. Josef KÖRBER.</b>	1
P. RUCKENBAUER	
<b>Zur Validierung von Saatgutprüfmethoden einst und jetzt</b>	5
A.M. STEINER, M. KRUSE und R. HERR	
<b>Prüfpläne für einen GVO-Schwellenwert von 0,1%</b>	9
M. KRUSE	
<b>Die ISTA-Akkreditierung für GVO-Untersuchungen im Rahmen des „Performance Based Approach“ Aus dem Blickwinkel der Labore</b>	13
B. SPECK, G. SCHUON, N. LEIST und A. JONITZ	
<b>Strategien zur Vermeidung von GVO-Verunreinigungen bei Saatgut - Optimierung des GVO-Monitorings in Österreich</b>	17
C. LEONHARDT, J. HARTMANN und L. GIRSCH	
<b>Systemoptimierung der Sortenzulassung/Saatgut Zertifizierung durch Autorisierung</b>	21
H.W. LUFTENSTEINER und A. RATZENBÖCK	
<b>Integration von spezifischen, validierten/evaluierten Gesundheitsmethoden in das Saatgutenerkennungsverfahren als Selektionskriterium von hochwertigem Saatgut</b>	25
M. WEINHAPPEL	
<b>Das Keyence Mikroskop und sein digitaler Einsatz zum Aufbau einer Samensammlung.</b>	29
C. MÜLLER, A. JONITZ und N. LEIST	
<b>Entwicklung von immunochemischen und PCR-Methoden zum qualitativen Nachweis von <i>Tilletia</i> Arten in Saatgut</b>	33
T. KELLERER, M. SEDLMEIER, F. RABENSTEIN und B. KILLERMANN	
<b>Nutzung von PCR-Sonden zur Saatgutkontrolle am Beispiel von <i>Peronospora valerianellae</i> und <i>Peronospora swinglei</i> s.l.</b>	37
F. BRÄNDLE, H.-J. SCHÄRER, L. PENZKOFER und M. THINES	
<b>Technology changes in the Hungarian hybrid maize seed industry over the past 50 years</b>	39
G. TAKÁCS, S.Z. RUTTHNER, J. PINTÉR and CS. L. MARTON	
<b>Brandkrankheiten bei Weizen - Erfahrungen und Ergebnisse aus der Saatgutuntersuchung und Stand der derzeitigen Diskussion</b>	41
B. KILLERMANN, B. VOIT und P. BÜTTNER	
<b>Conventional breeding and biotechnological methods for the control of Western corn rootworm (<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>)</b>	45
L.C. MARTON, C. SZÓKE and J. PINTÉR	
<b>Einfluss chemischer Beizmittel auf die Keimfähigkeit von Getreidesaatgut.</b>	49
G. MÜLLER	
<b>Saatgutbehandlungen an Gemüsesaatgut.</b>	53
H.-J. SCHÄRER	
<b>Vorsaatbehandlung bei Wiesenrispe (<i>Poa pratensis</i> L.) mit Ascorbinsäure</b>	55
C. SANDRITTER und M. KRUSE	
<b>Langlebigkeit von Saatgut in der <i>ex situ</i> Genbank in Gatersleben</b>	59
M. NAGEL, S. PISTRICK und A. BÖRNER	
<b>Das Lagerungsverhalten von „ultra dry“ Weizensaatgut</b>	63
Q. YANG und M. KRUSE	
<b>Die Tetrazolium Working Sheets, Methodenentwicklung und Aufnahme neuer Arten in die ISTA-Vorschriften</b>	67
S. KRÄMER, A. JONITZ und N. LEIST	

<b>An automated image analysis system for seed vigour assessment in rapeseed</b> .....	71
G. TOHIDLOO, M. KRUSE, H. DADGOSTAR, I. BORCHARDT, A.E. BAER and M. FRAUEN	
<b>Energiemais - Stand der Züchtung</b> .....	75
R. KREPS	
<b>Entwicklung von Energie-Sorghum für Deutschland Aktueller Stand und Forschungsschwerpunkte</b> .....	79
A. ZACHARIAS	
<b>Keimuntersuchungen bei zwei Winterweizensorten mit unterschiedlicher Auswuchsfestigkeit</b> .....	81
B. VOIT, J. STANGLMAIER, T. EBERTSEDER und B. KILLERMANN	
<b>Aktueller Forschungsstand zur Zuchtwertschätzung in der Pflanzenzüchtung</b> .....	85
A.M. BAUER und J. LÉON	

## Poster

<b>Is the Root System a Significant Factor when Selecting Wheat of Barley Varieties?</b> .....	89
V. DOSTAL, O. CHLOUPEK and T. STREDA	
<b>Different barley cultivars as a source of green mass for improving nutrient balance in human diet</b> .....	91
J. EHRENBERGEROVÁ, K. VACULOVÁ, I. PAULÍČKOVÁ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI, S. MACUCHOVÁ, J. KOPÁČEK, D. GABROVSKÁ, M. HOLASOVÁ, J. OUHRABKOVÁ, J. RYSOVÁ, V. FIEDLEROVÁ, R. WINTEROVÁ and S. HORÁČKOVÁ	
<b>Evaluation of HPPD gene expression in relation to vitamin E content in barley</b> .....	95
M. KOSAŘ, L. HOLKOVÁ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI AND J. EHRENBERGEROVÁ	
<b>Differences in barley Dhn genes expression in the plants exposed to short/long term drought stress</b> .....	97
P. MIKULKOVÁ, L. HOLKOVÁ, M. BRADÁČOVÁ and O. CHLOUPEK	
<b>Seed Quality and Fungal Growth on Barley Seed</b> .....	99
P. HRSTKOVÁ	
<b>Zehn elementare Voraussetzungen zur sicheren Bestimmung von GVO-Beimengungen in Saatgut</b> .....	101
T. KEIL und M. KLEINE	
<b>Saatgutschwellenwerte - essenziell für die Schaffung von Rechtssicherheit</b> .....	103
K. MÖNCH	
<b>Genetische und umweltbedingte Variation des Stärkegehaltes von Weizen und Triticale in Hinblick auf die Bioethanolerzeugung</b> .....	105
M. OBERFORSTER und R. KÖHLDORFER	
<b>Netzwerk der Kartoffel - Genexpression aktiviert durch verschiedene Photoperioden</b> .....	111
J. RODEWALD, F. TROGNITZ und B. TROGNITZ	
<b>Evaluierung der agronomischen und qualitativen Eigenschaften von Winterweizen (<i>Triticum aestivum</i> L.) im Kosovo</b> .....	113
S. SALIHU, H. GRAUSGRUBER und H.-P. KAUL	

## Vorwort

Meine sehr verehrten Damen und Herren, geschätzte Tagungsteilnehmer!

Ich darf Sie als Obmann der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs sehr herzlich begrüßen. Die Teilnehmerzahl ist heuer wohl geringer als im Vorjahr, was unter anderem auch am speziellen Tagungsthema liegt, das vielleicht nicht diese Breitenwirkung hat.

Das Thema „Fortschritte in der Saatguttechnologie und -untersuchung“ ist zuletzt umfassend vor 11 Jahren anlässlich der 47. Tagung im Jahre 1996 behandelt worden. Da in diesem Zeitraum eine Weiterentwicklung auf dem Geräte- und dem Methodensektor stattgefunden hat, dürfte eine aktuelle Gesamtschau nützlich und interessant sein.

Das weitere Schwerpunktthema „Ertragsorientierte Züchtungsstrategien für neue Verwertungsmöglichkeiten“ resultiert aus der gegenwärtigen Diskussion über eine intensiviertere Nutzung von Bioenergie von pflanzlichen Rohstoffen angesichts der zunehmenden Verknappung fossiler Energieressourcen und den weltweiten Kohlendioxidanstieg. Von der Pflanzenzüchtung wird erwartet, dass sie diese Nachfrage durch Bereitstellung geeigneter Sorten nachkommt. Möglicherweise ist solches Material in der Vergangenheit weggeworfen worden, weil man diese Züchtungsrichtung noch nicht gesehen hat.

Ich bedanke mich bei Herrn Direktor Dr. SONNLEITNER, dass er uns wieder als Gäste aufgenommen hat und die notwendigen Ressourcen und Kräfte, die für einen reibungslosen Ablauf der Tagung notwendig sind, immer gerne bereitstellt.

Den Herren Professoren RUCKENBAUER und GRAUSGRUBER sage ich Dank dafür, dass es ihnen wieder gelungen ist, hochkarätige Vortragende aus dem Inland und dem benachbarten Ausland für diese Themenkreise zu gewinnen.

Dem Geschäftsführer, Herrn Dr. BRANDSTETTER und seinen Mitarbeiterinnen danke ich für die umfangreiche Vorbereitung und Durchführung dieser Tagung. Frau TRISCHLER beendet heuer ihre Mitarbeit in diesem Bereich, dafür ist Frau GEPPNER erstmals dabei.

Ich darf Sie, meine sehr geschätzten Damen und Herren, noch davon informieren, dass anlässlich einer ESA-Tagung vor wenigen Wochen Herr Dr. GOHN von der Probstdorfer Saatzeit zum neuen Vorsitzenden der Sektion „Getreide und Eiweißpflanzen“ gewählt worden ist. Wir sind sehr stolz darauf, dass ein Vertreter Österreichs nun diese Funktion innehat und wünschen ihm alles Gute und viel Erfolg in dieser wichtigen Sektion.

Ihnen, meine geschätzten Tagungsteilnehmer, darf ich eine interessante Vortragsveranstaltung wünschen, die sicher Informationen und Anregungen bringt, wieder Kontakte zu Freunden und Geschäftspartnern ermöglicht und insgesamt einen angenehmen Aufenthalt bietet, damit Sie im kommenden Jahr gerne wiederkommen.

*Dr. Herbert ETZ*

Obmann

## In memoriam Prof. Dr. Dr. hc. Klaus-Ulrich HEYLAND



Die Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn und ihre landwirtschaftliche Fakultät betraueren am 29. November 2006 den Tod einer ihrer profiliertesten Persönlichkeiten: Prof. Dr. Dr. hc. Klaus-Ulrich HEYLAND. Er war in den Jahren zwischen 1965 bis 1990 ein uns lieb gewordener Teilnehmer und oftmaliger Vortragender unserer Gumpensteiner Tagung. Seine umfassenden Kenntnisse auf allen Gebieten der Pflanzenbauwissenschaften und seine Diskussionsfreudigkeit waren damals ein fast unentbehrlicher Beitrag für das Gelingen der Tagungen.

Geboren am 28. Mai 1927 in Halle an der Saale, nahm er nach Kriegsende das Stu-

dium an der damaligen landwirtschaftlichen Hochschule in Hohenheim auf, wo er bei Prof. BROUWER promovierte und sich als Hochschulassistent auch 1961 habilitierte.

1969 übernahm er in Bonn am Institut für Pflanzenbau den Lehrstuhl für Speziellen Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung. Während seiner über 30-jährigen Forschungstätigkeit widmete er sein Interesse stets aktuellen Fragen der Pflanzenproduktion.

Unter seiner Leitung entstanden zahlreiche Diplomarbeiten und 60 Dissertationen.

Die Erkenntnisse, die er und seine ihm anvertrauten jungen Wissenschaftler aus den zahllosen Feldversuchen und Laborexperimenten gewannen, schufen wichtige Grundlagen für eine integrierende Landbewirtschaftung unter dem Motto: „Soviel wie nötig und so wenig als möglich“.

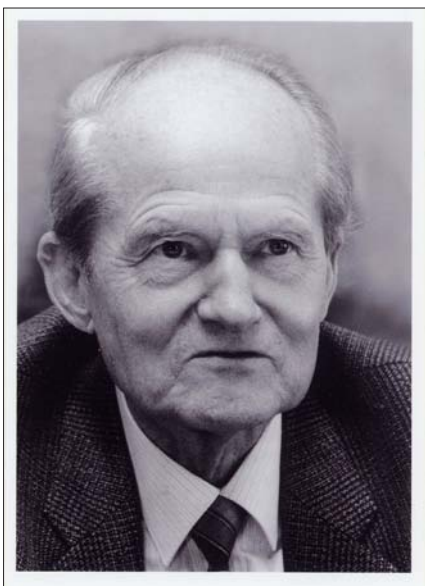
HEYLAND vertrat damals schon die feste Überzeugung, dass auch unter Berücksichtigung ökologischer Gesichtspunkte eine ökonomisch sinnvolle Landbewirtschaftung möglich ist. Von seinem Engagement, die gewonnenen Ergebnisse auch in die Praxis umzusetzen und für die Ausbildung von Studierenden zugänglich zu machen, zeugen mehrere Lehrbücher, darunter das Handbuch des Pflanzenbaues. In seiner langen Lehrtätigkeit war HEYLAND im-

mer bestrebt, die züchterischen Aspekte der Sortenentwicklung in die gesamte Produktionskette der vielfältigen Palette von Kulturpflanzen zu integrieren.

Sein wissenschaftliches Werk wurde über die Grenzen hinaus durch die Verleihung der Ehrendoktorwürde der Universität Breslau ausgezeichnet. Auch die Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften, deren Vorsitzender er von 1979-1981 war, ernannte ihn zu ihrem Ehrenmitglied. Neben der Lehr- und Forschungstätigkeit engagierte sich HEYLAND in besonderer Weise für die Belange der Landwirtschaftlichen Fakultät, in den Jahren 1980/81 und 1987/88 war er ihr Dekan. Besonders bemerkenswert war sein selbstloser und unermüdlicher Einsatz für die Belange der Behinderten. Er war viele Jahre hindurch Vorsitzender mehrerer Behindertenverbände und Gründer eines großen Behindertenheimes. Für dieses bemerkenswerte Lebenswerk zeichnete ihn die Bundesrepublik Deutschland mit dem Bundesverdienstkreuz aus.

Die älteren Teilnehmer der Gumpensteiner Züchtergemeinschaft erinnern sich noch seiner rheinischen Fröhlichkeit bei den Nachsitzungen, die damals noch bis in die Morgenstunden andauerten, ohne die Präsenz bei den ersten Vorträgen des jungen Tages zu vernachlässigen. Als ein Herr aus echtem Schrot und Korn wird er uns und seinen zahllosen Schülern immer in Erinnerung bleiben.

## In memoriam Prof. Dr. Dr. hc. F. Wolfgang SCHNELL



Die Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, die hier versammelten Teilnehmer der Tagung 2007 und die große Gemeinschaft aller Pflanzenzüchter und Saatgutverantwortlichen in Praxis, Forschung und Verwaltung betrauern den Weggang einer profilierten Persönlichkeit, die über 2 Jahrzehnte für seine österreichischen Freunde auch Inhalt und Form dieser alljährlich stattfindenden Tagung prägte: Prof. Dr. Dr. hc. F. Wolfgang SCHNELL.

Er ist am 29. Dezember 2006 im Alter von 93 Jahren in seiner Heimatstadt Stuttgart verstorben.

Wolfgang SCHNELL wurde 1913 in Bad Oeynhausen geboren und studierte Landwirtschaft in Göttingen und Weihenstephan. Er erlebte den zweiten Weltkrieg an der Ostfront und musste 4 Jahre in russischer Gefangenschaft verbringen.

Danach begann für ihn erst das eigentliche Leben, das er der Wissenschaft widmete. Er promovierte 1949 in Göttingen und übernahm am Max-Planck-Institut

für Züchtungsforschung in der Außenstelle Scharnhorst das Arbeitsgebiet fremdbefruchtete Getreidearten, wozu vor allem Roggen und Mais zählen. Die Züchtungsforschung für diese zwei Kulturarten bestimmten sein eigentliches Lebenswerk. Nach einem entscheidenden Aufenthalt in den USA mit dem Schwerpunkt Hybridzüchtung bei Mais und seinem darauf folgenden Züchtungserfolg mit der ersten deutschen frühreifen Körnermais-Hybridsorte „Velox“, habilitierte er sich 1963 in Göttingen für das Fachgebiet Pflanzenzüchtung.

Noch im selben Jahr folgte er dem Ruf der Universität Hohenheim auf den Lehrstuhl für Angewandte Genetik und Pflanzenzüchtung.

Damit verbunden war auch die Leitung des Institutes für Pflanzenzüchtung und der Landessaatzuchtanstalt.

Dank seiner herausragenden Ideen und Leistungen für Lehre und Forschung entwickelte Herr SCHNELL, bis zu seiner Emeritierung im Jahre 1981, die weit über die Grenzen Europas hinaus anerkannte Hohenheimer Schule für Pflanzenzüchtung. Wer sich heute in der deutschen Pflanzenzüchtung umsieht, der wird in den leitenden Positionen eine Gemeinsamkeit entdecken: die meisten sind mit Schülern von Wolfgang SCHNELL besetzt und mittlerweile auch von Schülern seiner Schüler.

Er gilt als einer der Protagonisten für die Anwendung moderner biometrischer Methoden in der Züchtung und Züchtungsforschung und legte wichtige Grundlagen für die großen Fortschritte in der Hybridzüchtung insbesondere für Roggen. Hohe internationale Anerkennung fanden seine Beiträge zur Modellierung der genetischen Rekombination, zur Analyse der Variation quantitativer Merkmale und zur Optimierung von

Selektionsprozessen.

Als Herr SCHNELL bereits im fortgeschrittenen Alter anlässlich einer großen Tagung die Bemerkung fielen ließ, dass er jetzt in einem Alter sei, wo Ehrungen nicht mehr schaden könnten, wurde er gehört und große Ehrungen wurden ihm zuteil. Eine davon empfand er als besondere Auszeichnung mit der ihm das Internationale Mais und Weizen-Forschungszentrum CIMMYT in Mexiko 1997 den Ehrentitel „Distinguished Pioneer in Heterosis“ verlieh. Die Universität Hohenheim ehrte das Lebenswerk ihres begnadeten akademischen Lehrers und Gründers des erfolgreichen Studienganges „Agrarbiologie“ zuletzt mit der Benennung einer neu geschaffenen Stiftungsprofessur mit dem Namen „F.W. SCHNELL Stiftungsprofessur für Nutzpflanzendiversität und Züchtungsinformatik“.

Die Gumpensteiner Tagung durfte 15 Jahre lang einige Glanzpunkte seiner Vortragskunst erleben und seine wachsende Zuneigung zu uns österreichischen Züchtern, unserer Art zu arbeiten und zu leben war für uns mehr als eine Auszeichnung.

Als sein unmittelbarer Nachfolger am Lehrstuhl in Hohenheim ab 1983 - eine Aufgabe, die mich zu Beginn extrem forderte - lernte ich auch seine persönlichen Qualitäten kennen.

Sein großes Interesse weit über das Fachgebiet hinaus, seine besondere Beziehung zu Kunst und Kultur, seine Geselligkeit und nicht zuletzt die Betreuung und Fürsorge um seine Doktoranden waren für mich das Maß, an dem auch ich gemessen werden wollte.

Wir alle, die ihn kannten, werden ihm einen hervorragenden Platz in unseren Erinnerungen einräumen.



## In memoriam Ing. Josef KÖRBER



Die Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute und die bäuerliche Bevölkerung Österreichs verlor am 11. März diesen Jahres einen der Stillen im Lande, der - wenig beachtet von der Öffentlichkeit - durch sein fast 40-jähriges berufliches Engagement, seiner Ausdauer und seiner Hingebung für den schöpferischen Beruf des Pflanzenzüchters der österreichischen Landwirtschaft im wahrsten Sinne des Wortes diente: Ing. Josef KÖRBER.

Josef KÖRBER wurde am 28. Jänner 1923 in Jesau, Bezirk Iglau in der heutigen Tschechischen Republik als Sohn eines Landwirtehepaares geboren.

Nach dem Besuch einer 6-klassigen Volksschule absolvierte er eine landwirtschaftliche Fachschule, von der er 1941, unmittelbar nach Schulabschluss, als 18-jähriger zur deutschen Wehrmacht eingezogen wurde. 1945, nach schwersten Entbehrungen an der Ostfront, seines elterlichen Erbes und seiner Heimat verlustig, fasste er als Landarbeiter wieder Fuß in Oberösterreich. Nach einer kurzen Ausbildung als Saatguttechniker an der bayerischen Landessaatzuchtanstalt in Freising-Weihenstephan bekam er im April 1948 eine Anstellung bei

der Oberösterreichischen Saatbau in der Pflanzenzuchtstation in Reichersberg am Inn. Ab dem Jahre 1956 wurde ihm die Durchführung aller pflanzenzüchterischen und landwirtschaftlichen Arbeiten an dieser Station übertragen. Sie wurde ihm in den folgenden Jahren zu seiner beruflichen und familiären Heimat.

Zusammen mit seiner leider viel zu früh verstorbenen Frau Waltraud, die als Saatguttechnikerin die Futterpflanzenzüchtung betreute, schuf er bereits in den 60er Jahren ein für das baltische Klimagebiet hervorragend angepasstes Zuchtmaterial von Winterweizen, Sommergerste und Hafer, aus dem er in der Folge eine Vielzahl von bedeutenden Sorten entwickelte.

Als völliger Autodidakt und unbeirrt von diversen Ratschlägen von sogenannten Fachexperten oder solchen, die sich dafür hielten, schuf er völlig neue Typen von Winterweizensorten, die sich - entgegen aller Erwartungen und trotz ihrer extremen Kurzhalmigkeit - durch erstmals in Oberösterreich erzielbare Höchstserträge von 6-7 Tonnen pro Hektar auszeichneten. Die Sorten MULTIBRAUN und MULTIWEISS stellten über Jahre hinaus die Säulen des Oberösterreichischen Winterweizenanbaues dar. Mit LINZEBRAUN, LENTIA, DANUBIUS und ÖNUS gelangten ihm neben wesentlich verbesserten Resistenzeigenschaften auch deutliche züchterische Erfolge in der Steigerung der Backqualität. Mit den Sorten TITUS und insbesondere IKARUS schaffte er den Durchbruch zur Spitzensorte. Seine insgesamt 23 ins Zuchtbuch eingetragenen Winterweizensorten sind eine - auch in europäischen Dimensionen gesehen - herausragende Züchterleistung für einen genossenschaftlich geführten, mittelständischen Zuchtbetrieb.

Bedeutendes schuf Josef KÖRBER auch auf dem schwierigen Gebiet der Sommergerstenzüchtung, auf dem die österrei-

chischen Züchter ganz besonders schwer der ausländischen Konkurrenz ausgesetzt waren. Mit den Sorten BERTA und IRMA gelangten ihm zwei besondere Selektionserfolge, an die sich dann ADELE und JUTTA, sowie seine letzte Sorte CARMEN erfolgreich anschlossen.

Auch in der Züchtung von Hafer schuf er Sorten für niederschlagsreiche Gebiete Ost- und Mitteleuropas, unter denen die Sorte TARRA, hinsichtlich der nur mittleren Ertragsleistungen der Sorten in den 70er Jahren, eine Sonderstellung einnahm. Mit den Sorten LORD, NATHAN und SENATOR erschloss er damals neue Absatzmärkte in Bayern und der ehemaligen Tschechoslowakei.

Mit diesem Überblick über das Lebenswerk des begnadeten Züchters, der als Autodidakt begonnen hatte und Schritt für Schritt die genetische Schrift seiner ihm anvertrauten Pflanzen zu lesen verstand, wäre das Bild von Josef KÖRBER noch nicht vollständig.

Seine besondere Gabe mit den unzähligen Bauern und Nutzern seine Sorten umzugehen, seine Erläuterungen bei zahllosen Feldbegegnungen und seine Hingabe für seinen Beruf waren beeindruckend. In ihm verbanden sich Zielstrebigkeit und skrupulöse Sorgfalt für jede Art von Tätigkeiten mit einer selten zu findenden Warmherzigkeit für die ihm anvertrauten älteren und jüngeren Mitarbeiter.

Der französische Philantrop Jean DE LA BRUYERE hat Begegnungen mit besonderen Menschen wie folgt beschrieben, sie treffen auch für Josef KÖRBER uneingeschränkt zu:

„Die wahre Größe ist ungezwungen, vertraulich, leutselig. Sie lässt sich nahe kommen und mit sich umgehen. Sie verliert nichts, wenn man sie in der Nähe sieht. Je mehr man sie kennen lernt, umso mehr darf man sie bewundern...“

# Zur Validierung von Saatgutprüfmethode einst und jetzt

A.M. STEINER, M. KRUSE und R. HERR

## Prolog

Auf wissenschaftlicher Grundlage erstellte Methoden und Einheitlichkeit in deren Anwendung sind die Voraussetzungen für eine international anerkannte und wirkungsvolle Saatgutprüfung.

### 1869 Nobbes Statut

1869 veröffentlichte NOBBE sein Statut mit Empfehlungen zur Probenahme, Größe der Einsendungsprobe sowie Bewertung der Keimfähigkeitsbestimmung. Die Angaben waren nach dem Kenntnisstand der Zeit zukunftsweisend verfasst, eine Validierung gab es nicht (cf. STEINER und KRUSE 2007).

### 1875 Die Versammlung in Graz

1875 fand in Graz die 1. Versammlung der Vorstände der Samencontrol-Stationen statt. Hier wurden von NOBBE ausgearbeitete Vorschläge „Die Technik der Untersuchung von Samenproben betreffend“ beraten. NOBBE hatte allen Teilnehmern seine Vorschläge vorab zugestellt, so dass eine zügige Diskussion und Beschlussfassung möglich war. Damit war eine erste Stufe der Validierung geschaffen: Für die Saatgutprüfung Verantwortliche stimmten über die Methoden ab, die zur „einmütigen Anwendung“ empfohlen wurden (cf. STEINER 2001).

### 1876 Die Versammlungen von Vorständen der Samenkontroll-Stationen

1876 diskutierte unter der Leitung von NOBBE die 2. Versammlung von Vorständen der Samencontrol-Stationen über die Weiterentwicklung der Prüfmethodik auf wissenschaftlicher Grundlage sowie die Einheitlichkeit bei deren Anwendung: „Uniformity in seed testing, ISTA“. Auf der 3. Versammlung 1877 wurde zur Vereinheitlichung und Verbesserung der Keimfähigkeitsbestimmung bei Wiesenrispe die erste Vergleichsuntersuchung beschlossen, über die auf der 4. Versammlung 1878 berichtet wurde. Damit

war eine zweite Stufe der Validierung geschaffen: Zum Kenntnisstand traten Vergleichsuntersuchungen hinzu. Auf dieser Grundlage wurde 1891 die „Die Technik der Samenprüfungen“ beschlossen (cf. STEINER 2000).

### 1893 Die Gründung des Ausschusses für Samenprüfungen

1893 wurde auf der Hauptversammlung des Verbands der landwirtschaftlichen Versuchs-Stationen im Deutschen Reiche „hauptsächlich zur Ausbildung einheitlicher Untersuchungsmethoden“ ein ständiger Ausschuss für Samenprüfungen gegründet. Damit war eine dritte Stufe der Validierung erreicht:

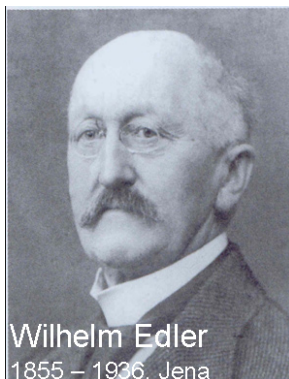
1. Begründung eines Vorschlags für eine Methode und Ausarbeitung einer Arbeitsanweisung für Vergleichsuntersuchungen
2. Begutachtung des Vorschlags und der Anweisung durch den Ausschuss und gegebenenfalls Überarbeitung
3. Versand der endgültigen Anweisung sowie einer Tabelle zum Eintrag der Ergebnisse an die teilnehmenden Samenkontroll-Stationen
4. Wahl der Saatgutproben und Durchführung der Vergleichsuntersuchung, Bericht der Ergebnisse an den Ausschuss
5. Auswertung der Ergebnisse durch den Ausschuss oder einen Beauftragten ggf. externe Begutachtung

6. Formulierung der erarbeiteten Vorschrift durch den Ausschuss oder einen Beauftragten
7. Übermittlung der Ergebnisse nebst Auswertung sowie der vorgeschlagenen Vorschrift an die Samenkontroll-Stationen
8. Vorlage und Diskussion der Vorschrift sowie mehrheitliche Beschlussfassung über deren Aufnahme in die Vorschriften durch die Versammlung der Vorstände der Samenkontroll-Stationen.

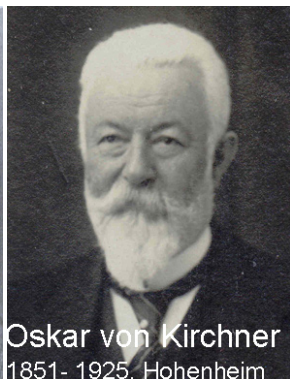
So wurden die „Technischen Vorschriften des Verbandes landwirtschaftlicher Versuchs-Stationen i. D. R. für die Samenprüfungen“ 1899 erarbeitet (cf. STEINER 2000). In anderen Ländern verlief die Entwicklung ähnlich wie in Deutschland. Beim 1. Internationalen Kongress für Samenprüfungen zu Hamburg 1906 wurden die Vorschriften aus Deutschland, Russisch-Polen, der Nordischen Reiche sowie der USA vorgestellt (cf. STEINER und KRUSE 2006).

### 1901 Beispiel einer Validierung

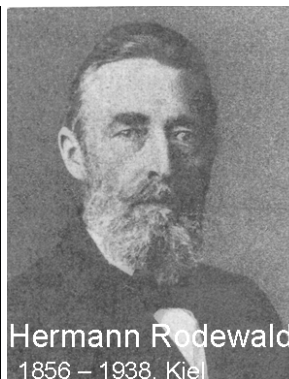
Von der Saatucht-Abteilung der Deutschen Landwirtschafts-Gesellschaft (DLG) wurde als Voraussetzung für die Regelung von Handelsgebräuchen eine Überprüfung von Saatgutprüfmethode und deren einheitlicher Anwendung initiiert. Dazu wurde 1901 auf einer Versammlung von 20 Vorständen von Samenkontroll-Stationen ein „Ausschuss für die Samenprüfungen“ berufen mit



Wilhelm Edler  
1855 – 1936, Jena

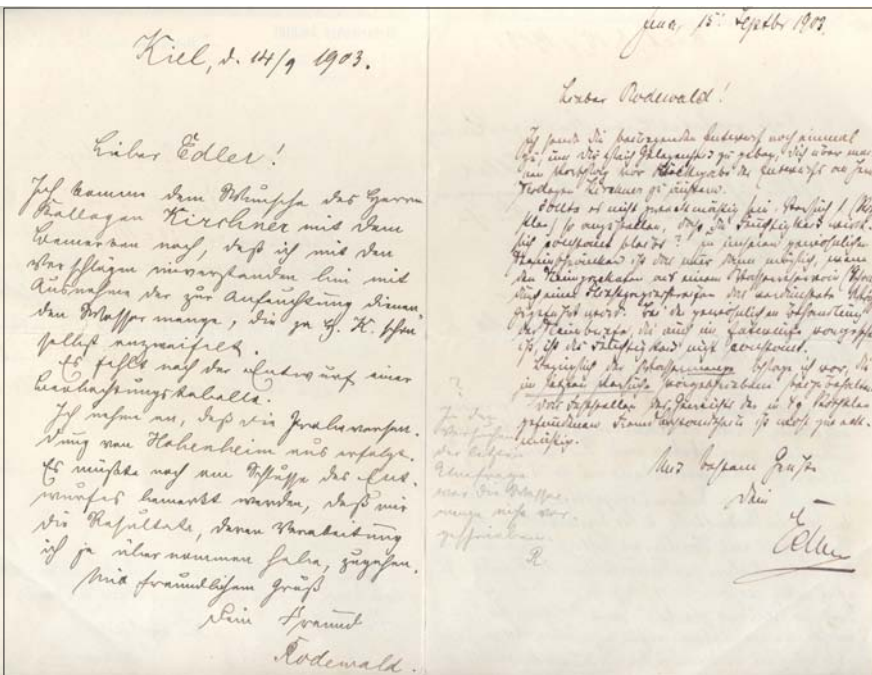
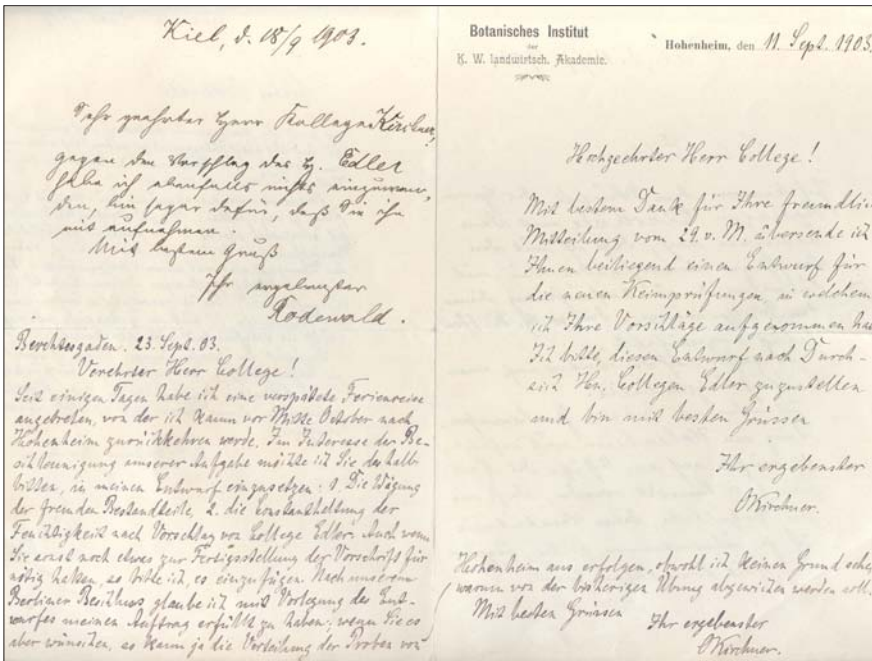


Oskar von Kirchner  
1851- 1925, Hohenheim



Hermann Rodewald  
1856 – 1938, Kiel

**Autoren:** Prof. Dr. Dr. h. c. Adolf Martin STEINER, Prof. Dr. Michael KRUSE und Dr. Romeo HERR, Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, D-70593 STUTTGART



WALD an EDLER; 15.9.1903 (Dienstag)  
EDLER an RODEWALD; 18.9.1903 (Freitag)  
RODEWALD an KIRCHNER und Nachsendung von Hohenheim nach Berchtesgaden; 23.9.1903 (Mittwoch)  
KIRCHNER an RODEWALD; fünf Briefe innerhalb von nur 12 Tagen!

Die Briefe KIRCHNERS und RODEWALDS sind leicht zu lesen, der Brief EDLERS in deutscher Schrift lautet:

„Lieber Rodewald! Ich sende Dir beiliegenden Entwurf noch einmal zu, um Dir gleich Gelegenheit zu geben, Dich über meinen Vorschlag vor Rückgabe des Entwurfs an Herrn Kollegen Kirchner zu äußern. Sollte es nicht zweckmäßig sein, Vorschlag 1 (Rothklee) so anzustellen, daß die Feuchtigkeit wirklich constant bleibt? In unseren gewöhnlichen Keimschranken ist das nur dann möglich, wenn den Keimpaketen aus einem Wasserreservoir (Schale) durch einen Filterpapierstreifen das verdunstete Wasser zugeführt wird. Bei der gewöhnlichen Behandlung der Keimbrieftage, die auch im Entwurf vorgesehen ist, ist die Feuchtigkeit nicht constant. Bezüglich der Wassermenge schlage ich vor, die im letzten Versuche vorgeschriebene beizubehalten. Das Feststellen des Gewichts der in 4 g Rothklee gefundenen Fremdbestandteile ist wohl zweckmäßig. Mit besten Grüßen Dein Edler.“

Die Anrede- und Grußformeln lassen in schöner Weise erkennen, wie vornehm damals Kollegen miteinander umgingen. Übrigens, die Untersuchungen zeitigten Erfolg.

**1931 Die Internationalen Vorschriften für die Prüfung von Saatgut**

Die Geschichte der Internationalisierung der Saatgutprüfung ist bekannt (cf. STEINER 2000). Das bislang national geübte Verfahren der Validierung von Methoden wurde von der Internationalen Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA) weitergeführt. An die Stelle eines allgemeinen Ausschusses traten die Technischen Ausschüsse, an die Stelle der Vorstände der Saatgutkontroll-Stationen die stimmberechtigten Mitglieder, das ISTA Sekretariat übernahm organisatorische Aufgaben. Die 1. Internationalen Vorschriften für die Prüfung von Saatgut 1931 wurden vom ISTA Forschungsausschuss für Länder mit gemäßigttem Klima

den Professoren Dr. RODEWALD, Dr. KIRCHNER und Dr. EDLER als fachkundigen Mitgliedern (Foto) und seitens der DLG mit dem Vorsitzenden des Direktoriums Ritterschaftsrat von Arnim, Criewen, als Vorsitzendem und dem Geschäftsführer Dr. P. HILLMANN als Schriftführer. Niederschriften von Sitzungen von 1901-1905, Anweisungen für die gemeinsamen Samenprüfungen sowie persönlicher Schriftwechsel der Ausschussmitglieder zur Ausarbeitung der Anweisungen befinden sich im Archiv des Fachgebiets Saatgutwissenschaft und -technologie der Universität

Hohenheim. Die Vorgehensweise folgte dem für die Validierung von Methoden geübten Verfahren (siehe oben). Ein reizvoller Auszug des Briefwechsels zwischen den Ausschussmitgliedern sei dargestellt. Es handelt sich um die Ausarbeitung einer Anweisung für die Keimfähigkeitsbestimmung bei Rotklee sowie die Bestimmung der TKM bei Knaulgras. Fünf Briefe sind auf der Vorder- und Rückseite eines DIN A4 Briefbogens in der Art heutiger E-Mails nacheinander geschrieben (Abbildung): 11.9.1903 (Freitag) KIRCHNER an RODEWALD; 14.9.1903 (Montag) RODE-

erarbeitet, auf dem VI. Internationalen Samenkontrollkongress zu Wageningen 1931 diskutiert und von den stimmberechtigten Mitgliedern beschlossen (ANONYMUS 1931). Die Validierung von Methoden wird durch die Berichte der Technischen Ausschüsse sowie Veröffentlichungen in den ISTA Proceedings und anderen Zeitschriften eindrucksvoll belegt. STEINER (1997, cf. LEIST 1997) fertigte ein Flussdiagramm zur Validierung und schilderte Beispiele. Auch die Geschichte und Aufgabe der Technischen Ausschüsse wurden beschrieben (STEINER 1998).

**ISTA Method Validation 2007**

HAMPTON (2005) schreibt „Method Validation was introduced to ISTA by the Seed Health Committee ... in 2000... Using the ISTA validation process will ensure that the final product is a sound, validated seed quality test method.“ Ferner schreibt HAMPTON (2007) „... the process is new to most other TCOMs.“ Weder im ISTA Handbook of Method Validation for the Detection of Seed-borne Pathogens (SHEPPARD und COCKERELL 2000) noch in der Schrift ISTA Method Validation in Seed Testing (ANONYMUS 2007) wird auf das bisherige Verfahren Bezug genommen. Da stellt sich die Frage: Handelt sich bei der Validierung 2007 um ein Novum, und sind die bisherigen Methoden nicht „sound, validated“? Die ISTA Method Validation 2007 schreibt 11 Punkte vor:

1. Draft plan: The test organizer prepares a detailed draft test plan, a well defined time schedule and a list of participants for the comparative test and submits the draft test plan to the Technical Committee
2. In-house test run: The test organizer conducts an in-house test-run of the entire test method using the actual samples to be used in the comparative test

3. Review of draft test plan by three reviewers, organized by the Technical Committee
4. The test organizer prepares the final test plan, incorporating the comments of the reviewers
5. Distribution of the seed samples, time schedule, data record sheet and final test plan to the participants
6. Test reports: draft report sent to the laboratories - final test report sent to the Technical Committee
7. Review of the test results by two reviewers
8. Approval, revision or rejection of the validated method by the Technical Committee
9. Proposal for the ISTA Rules to be submitted to the Rules Committee
10. Report and rules proposal are listed on the ISTA Online website. Any interested party may submit comments for or against the adoption of the proposal
11. Methods accepted by a majority vote at the ISTA membership meeting will be published in the Rules for Seed Testing

Vergleicht man dieses Verfahren mit dem seit 1893 geübten Verfahren, so sind keine grundsätzlichen Unterschiede erkennbar (s. o., cf. STEINER 1997). In der Tat handelt es sich um eine äußerst ausführliche Darstellung des seit über 100 Jahren geübten Verfahrens. Neu ist allenfalls, dass die Vorschläge, dank Internet, nun jedermann zur Diskussion gestellt werden. Von „introduced to ISTA in 2000“ (HAMPTON l. c.) kann keine Rede sein.

**Brauchbarkeit der ISTA Method Validation 2007**

Im Gegensatz zum bisherigen Verfahren, das bezüglich der Handhabung Flexibilität ließ, wohlgermerkt aber nicht bei der

strengen Prüfung durch den Technischen Ausschuss und die Beschlussfassung durch die stimmberechtigten Mitglieder, macht das Verfahren 2007 äußerst stringente Verfahrensvorschriften, die zu befolgen mühsam und zeitraubend sind. Ein Beispiel: Im November 2006 vereinbarten M. KRUSE, Hohenheim, und N. LEIST, Augustenberg, eine Validierungsstudie zur Tetrazoliumuntersuchung bei Tomate, Zwiebel, Kopfsalat und Gurke, für die im ISTA Handbook on Tetrazolium Testing (MOORE 1985) und den ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing (LEIST und KRÄMER 2003) Methoden angegeben sind. Die Untersuchungen bei Tomate sind am weitesten fortgeschritten und in der Tabelle dargestellt. Von der ISTA Method Validation 2007 wurde in folgenden Punkten abgewichen: Der Entwurf eines Arbeitsplans (1) sowie dessen Begutachtung (4) wurden durch die in den Working Sheets beschriebene Methode und eine Besprechung ersetzt, auf eine Begutachtung (3) wurde verzichtet. Der Exekutivausschuss wurde über diese Verkürzungen unterrichtet. Die Punkte 2, 5 und 6 wurden erfüllt, Punkt 7 wird übersprungen. Die Punkte 8-11 obliegen ISTA-Funktionsträgern. Ungeachtet der Verkürzung dauerte die Bearbeitung schon acht Monate. Hätte man die Punkte 1, 3, 4 und 7 erfüllen müssen, wären weitere Monate hinzugekommen. Die Punkte 8-10 werden nochmals Monate in Anspruch nehmen; im Falle von Rückfragen wohl mehrere Monate. Damit stellt sich die Frage, ob eine genaue Befolgung der ISTA Method Validation 2007 überhaupt praktikabel ist, und darüber hinaus auch, ob sie allgemein notwendig ist. Das Beispiel zeigt, dass schon auf Grund wissenschaftlicher und praktischer Evidenz die gewählte Verkürzung gerechtfertigt ist. Denn MOORE (1985) zitiert für Tomate sechs Referenzen, und dazu liegen die nach umfangreicher Prüfungserfahrung

**Tabelle 1: Arbeitsplan der abgekürzten ISTA-TTC-Validierungsstudie der Universität Hohenheim und des LTZ Augustenberg für Tomate (*Lycopersicon esculentum* L.)**

Datum	Verfahrensschritt	Zeitaufwand [Monate]
04.12.06	Besprechung des Programms mit S. KRÄMER (TZ Chair), N. LEIST (TZ Past-Chair), R. HERR (Organisator)	0,0
14.12.06	Information des Exekutivausschusses über Abkürzung	0,5
Dez.-Jan.	Beschaffung und Prüfung von 4 Saatgutpartien	1,0
30.01.07	Auswahl und Zusage von 8 ISTA Labors	1,5
08.02.07	Versand der Teilproben an die mitarbeitenden Labors	2,0
30.03.-09.07.07	Eingang der Ergebnisse	7,0
20.07.-31.07.07	Zusammenstellung und Auswertung der Ergebnisse	8,0

gefertigten Data Sheets vor. Wollte man alle in *Tabelle 5* aufgeführten Arten für *Tabelle 6* nach der ISTA Method Validation 2007 bearbeiten, benötigte man über Jahrzehnte ein Heer von Saatgutprüfern. Insofern mag die ISTA Method Validation 2007 als hoch angesetzter Standard für kritische Fälle angemessen sein, durchgängig ist sie aber schlicht nicht praktikabel.

## Zusammenfassung und Ausblick

Die Saatgutprüfung und die Validierung von Methoden zur Saatgutprüfung entwickelten sich Hand in Hand. Schon vor der 1. Internationalen Konferenz für Samenprüfung 1906 (STEINER und KRUSE 2006) wurden die Grundsätze wissenschaftlicher Validierung weltweit beachtet. Die ISTA übte seit 1924 das etablierte, flexible und erfolgreiche Verfahren (STEINER 1997, 1998). Die ISTA Methode Validation 2007 beschreibt das bisherige Verfahren für Vergleichsuntersuchungen in einer äußerst detaillierten Art und Weise, allerdings ohne das bisherige Verfahren irgendwie zu erwähnen. Eine strikte Anwendung der ISTA Method Validation 2007 auf alle Fälle erscheint des sehr hohen Aufwands wegen weder erfolgversprechend, noch allgemein geboten. Das bisher bewährte

Verfahren einer flexiblen Handhabung des Einzelfalls unter Berücksichtigung der Veröffentlichten wissenschaftlichen Evidenz sowie der bekannten praktischen Erfahrung hat sich bewährt, weil zielführend und in der Praxis durchführbar.

## Widmung

Diesen Beitrag widmen wir mit herzlichem Dank Herrn O. Univ. Prof. em. Dipl.-Ing. Dr. nat. techn. Peter RUCKENBAUER in hoher Wertschätzung seiner Arbeit und Verdienste als langjähriger wissenschaftlicher Leiter der Arbeitstagungen der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs (VPSÖ) in Raumberg-Gumpenstein.

## Literatur

- ANONYMUS, 1931: ISTA Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. Proc. Intern. Seed Test Ass. 3, 313-385
- ANONYMUS, 2007: ISTA Method Validation for Seed Testing. ISTA, Zurich, Switzerland
- HAMPTON, J., 2005: ISTA Method Validation. ISTA Seed Testing International 130, 22-23
- HAMPTON, J., 2007: ISTA Method Validation. ISTA Seed Testing International 133, 39
- LEIST, N., 1997: The ISTA Rules and the Tetrazolium Handbook. In: Proceedings ISTA of the Tetrazolium Workshop, OSTs Edinburgh, 1997. Eds.: N. Leist, R. Don und A. M. Steiner. ISTA, Zurich, Switzerland

LEIST, N. und S. KRÄMER, 2003: ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing, Vol. I. ISTA, Zurich, Switzerland

MOORE, R.P., ed., 1985: Handbook on Tetrazolium Testing. ISTA, Zurich, Switzerland

SHEPPARD, J.W. und V. COCKERELL, 2000: ISTA Handbook of Method Validation for the Detection of Seed-borne Pathogens. ISTA, Zurich, Switzerland

STEINER, A.M., 1997: The current procedure for the improvement, incorporation and deletion of methods in the ISTA International Rules for Seed Testing. ISTA News Bulletin 115, 2-3

STEINER, A.M., 1998: History and tasks of the Technical Committees of the International Seed Testing Association (ISTA). ISTA News Bulletin 116, 2-3

STEINER, A.M., 2000: Landmarks of seed testing - ISTA for future. ISTA News Bulletin 121, 9-12, 2000

STEINER, A.M., 2000: 100 Jahre Technische Vorschriften des Verbandes Landwirtschaftlicher Versuchs-Stationen im Deutschen Reiche für die Samenprüfungen. VDLUFA-Schriftenreihe 55, 100-105

STEINER, A.M., 2001: 125 Jahre Vorschriften zur Saatgutuntersuchung. Die erste Versammlung der Vorstände von Samencontrol-Stationen zu Graz 1875. Bericht, 51. Arbeitstagung 2000 der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs, Gumpenstein, 77-84

STEINER, A.M. und M. KRUSE, 2006: Centennial - The 1<sup>st</sup> International Conference for Seed Testing 1906 in Hamburg, Germany. ISTA Seed Testing International 132, 19-21

STEINER A.M. und M. KRUSE, 2007: Nobbe's „Statute concerning the Testing of Agricultural Seeds“ of August 1869. ISTA Seed Testing International 134, (in press)

# Prüfpläne für einen GVO-Schwellenwert von 0,1%

M. KRUSE

## Zusammenfassung

Die Einführung eines „Vollzugsschwellenwertes“ durch die deutschen Bundesländer von 0,1% für Verunreinigungen konventionellen Saatguts mit zugelassenen GVOs sollte vor allem bei der Anwendung quantitativer Nachweismethoden eine eindeutige Entscheidungsfindung und damit Sicherheit für die Überwachungsbehörden und die Saatgutwirtschaft befördern. Im Falle der Beibehaltung der bisherigen Risikoverteilung, vor allem der Risikozuweisung an den Konsumenten, wie sie im „Saatgutkonzept“ des UAM (Kap. 2.3) enthalten ist, ist der Vollzugsschwellenwert von 0,1% mit quantitativen Nachweismethoden jedoch nicht realisierbar. Es wären beispielsweise quantitative Nachweisverfahren mit Bestimmungsgrenzen in der Größenordnung von 0,04% und Probengrößen von 8000 Samen erforderlich, um dieses zu erreichen. Das oben formulierte Ziel der eindeutigen Entscheidungsfindung mit quantitativen Nachweismethoden wird bei unveränderter Risikoverteilung also klar verfehlt. Wenn jedoch die Risikozuweisung an den Konsumenten größer als bislang ausfallen kann, sind mittels quantitativer Nachweismethoden Prüfpläne möglich. Hierfür ist jedoch zunächst eine politische Entscheidung über die Risikoverteilung unabdingbar notwendig.

## Vorbemerkungen

In der politischen Diskussion über die Bedeutung von GVO-Verunreinigungen im Saatgut werden als regulatives Instrument allein die Schwellenwerte für zufälliges und unvermeidbares Auftreten von GVO im Saatgut konventioneller Sorten diskutiert. Für den praktischen Saatgutverkehr sind aber darüber hinaus eindeutige Definitionen zur Zuverlässigkeit der Nachprüfung auf Einhaltung dieser Schwellenwerte unabdingbar notwendig. Hierfür müssen einige Überlegungen

zur sog. Annahmestatistik angestellt werden. **Schwellenwerte** sind zunächst abstrakte Werte, da sie sich auf die wahre und damit meistens unbekannte Eigenschaft eines Gegenstandes beziehen. Ein Schwellenwert von 0,1% für die GVO-Verunreinigung einer Saatgutpartie bezieht sich also auf den tatsächlich in der gesamten Partie existierenden „wahren Wert einer Saatgutpartie“ und nicht unmittelbar auf das - da potentiell fehlerbehaftete - Untersuchungsergebnis. Die Saatgutpartie muss den Schwellenwert erfüllen, nicht das Untersuchungsergebnis. Überschreitet der wahre Wert der Saatgutpartie den Schwellenwert, sollen Maßnahmen ergriffen werden, z.B. eine Kennzeichnung der Saatgutpartie als GVO-verunreinigt. Ziel eines **Prüfplans** ist nun, eine Entscheidungsregel so zu formulieren, dass trotz der Unkenntnis des wahren Wertes dieses Ziel anhand von Untersuchungsergebnissen mit hoher Zuverlässigkeit erreicht wird. Somit

hat der Schwellenwert trotz der zunächst abstrakten Basis eine hohe Relevanz für die praktische Umsetzung. Das **Konsumentenrisiko** ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Saatgutpartie, deren wahrer Wert oberhalb des Schwellenwertes liegt, in der durchgeführten Untersuchung nicht als solche erkannt wurde, da das Messergebnis unterhalb der **Annahmegrenze** liegt. Hiermit ist also kein gesundheitliches Risiko durch GVOs gemeint, sondern die statistische Wahrscheinlichkeit einer Fehlentscheidung hinsichtlich der Einhaltung des Schwellenwertes zu Ungunsten des Saatgutkäufer. Quantitativ kann dieses Risiko durch 2 Parameter definiert werden: LQL (Lower Quality Level) und beta. LQL bezeichnet diejenige schlechte Qualität (hohe wahre GVO-Verunreinigung in Prozent) einer geprüften Saatgutpartie, die der Saatgutkäufer oder auch die Überwachungsbehörde noch bei einer Auftretenswahrscheinlichkeit von beta

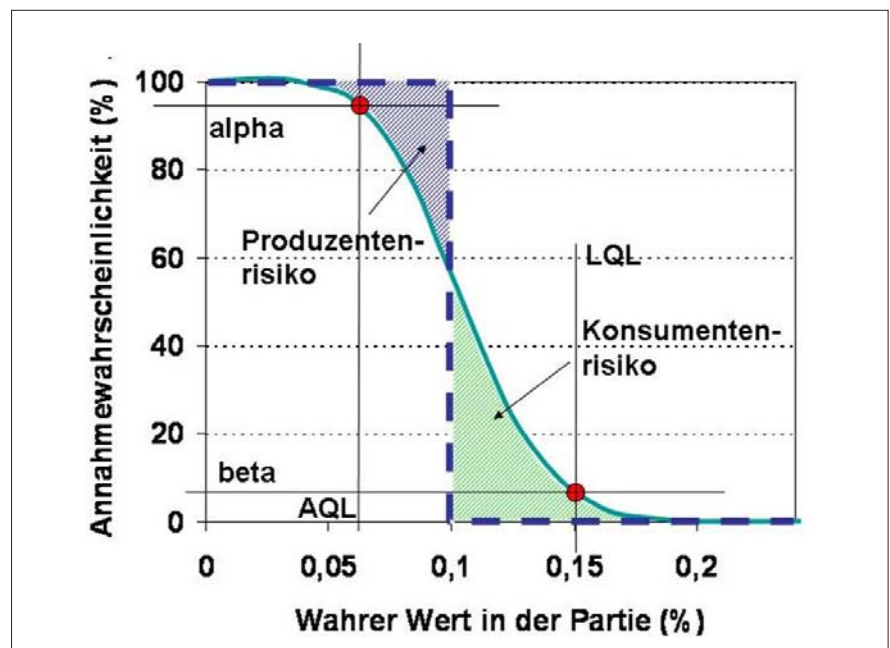


Abbildung 1: Schematische Darstellung der Annahmewahrscheinlichkeiten für Saatgutpartien mit wahren GVO-Anteilen um 0,1% im (unrealistischen) Idealfall einer Volluntersuchung (dicke gestrichelte Linie) sowie bei einer annähernd symmetrischen Verteilung der Risiken für Produzenten und Konsumenten mit Definition von LQL und  $\beta$ .

Autor: Prof. Dr. Michael KRUSE, Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART, mkruse@uni-hohenheim.de

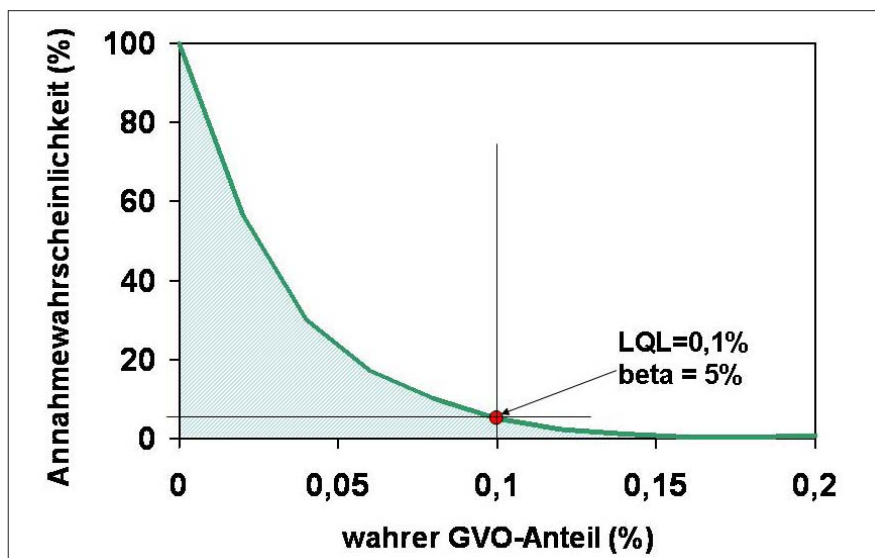


Abbildung 2: Annahmewahrscheinlichkeiten für den derzeitigen Prüfplan (3000 Samen werden untersucht, 0 positive). Hier ist die Wahrscheinlichkeit, dass eine Partie mit einer wahren GVO-Verunreinigung von 0,1% (LQL) ohne Maßnahmen belegt wird, 5% (entspricht  $\beta$ ).

% zu tolerieren bereit wäre. **Beta** ( $\beta$ ) bezeichnet die Wahrscheinlichkeit in Prozent, dass unter den geprüften und nicht mit Maßnahmen belegten Saatgutpartien immer noch solche mit einer (hohen) wahren Verunreinigung von LQL % auftauchen. Häufig wird für  $\beta$  ein Wert von 5% angenommen. Die **Bestimmungsgrenze** einer Methode ist die minimale GVO-Verunreinigung die mit der betreffenden Methode an einer Saatgutprobe noch hinreichend sicher als

Prozentanteil berichtet werden kann. Die oben angegebenen Definitionen zur Annahmestatistik sind in *Abbildung 1* noch einmal graphisch veranschaulicht. Es wurde hierfür ein Schwellenwert von 0,1% zu Grunde gelegt. Die ideale Situation wäre erreicht, wenn alle Partien mit wahren GVO-Verunreinigungen von 0,1% und darunter angenommen würden (Annahmewahrscheinlichkeit 100%), und solche mit GVO-Verunreinigungen oberhalb von 0,1% zu 100% Maßnah-

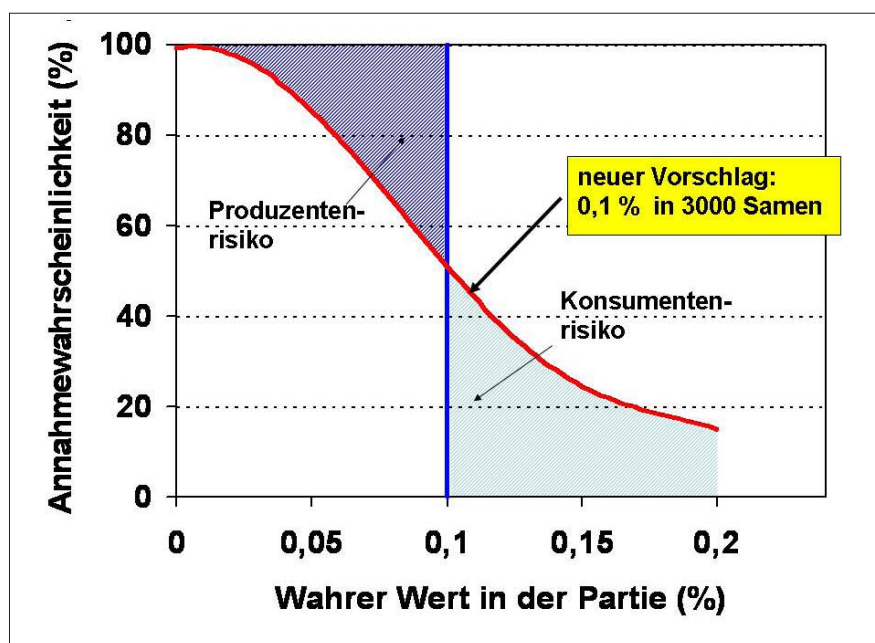


Abbildung 3: Operationscharakteristik für den vorgeschlagenen Prüfplan: untersuche 3000 Samen quantitativ, Ergebnisse oberhalb von 0,1% bedeuten Maßnahmen für die Saatgutpartien

men nach sich ziehen würden (Annahmewahrscheinlichkeit von 0%) hätten. Allein durch die Untersuchung nur von Stichproben entstehen Probenahmefehler, die bei der Bewertung der Ergebnisse zu Fehlentscheidungen über die Einhaltung des Schwellenwertes führen. So kann es beispielsweise dazu führen, dass wie in *Abbildung 1* dargestellt, die Annahmewahrscheinlichkeit einer Kurve folgt, die mehr oder weniger stark in die Breite gezogen ist. Diese Kurve nennt man auch Operationscharakteristik. Die Lage dieser Kurve und ihre Breite hängt nun vom jeweiligen Prüfplan ab.

Aufwändige Prüfpläne mit vielen großen Proben erreichen steile, schmale Kurven, die mit nur geringen Konsumenten- und Produzentenrisiken verbunden sind. Prüfpläne mit wenigen kleinen Proben verursachen flache Kurven mit großen Risiken für beide Seiten.

Die Definition einer Operationscharakteristik insgesamt ist für einen gegebenen Schwellenwert nun aber keine statistisch festgelegte Routine, sondern in diese Definition gehen vor allem die jeweils spezifischen Erwartungen der Beteiligten an die Sicherheit und Zuverlässigkeit der Entscheidungen ein, die natürlich auch davon abhängen, welche Maßnahmen bei zu hohen Untersuchungsergebnissen ergriffen werden. Somit ist dies eine Risikomanagementfrage und zweifelsohne ist die Entscheidung über die Operationscharakteristik im Bereich GVO ein politisch zu führender Prozess.

## Der derzeitige Prüfplan

Eine Operationscharakteristik für die derzeitige Handhabung der GVO-Nachprüfung nach dem Saatgutkonzept des Unterausschusses Methodenentwicklung (REMUND et al. 2001, ANONYMUS 2006) ist in *Abbildung 2* dargestellt.

Diese und die weiteren wurden mit dem Excel-Arbeitsblatt „SeedCalc 7.01“ (ISTA 2007) berechnet. Hiernach ist der Schwellenwert 0% und es werden 3000 Samen untersucht, die GVO frei sein müssen, damit die Partie nicht mit Maßnahmen belegt wird. Die Operationscharakteristik wird durch dem Koordinatenpunkt LQL = 0,1% und  $\beta = 5\%$  definiert. Dieser Prüfplan für den Schwellenwert 0% ist weithin akzeptiert.

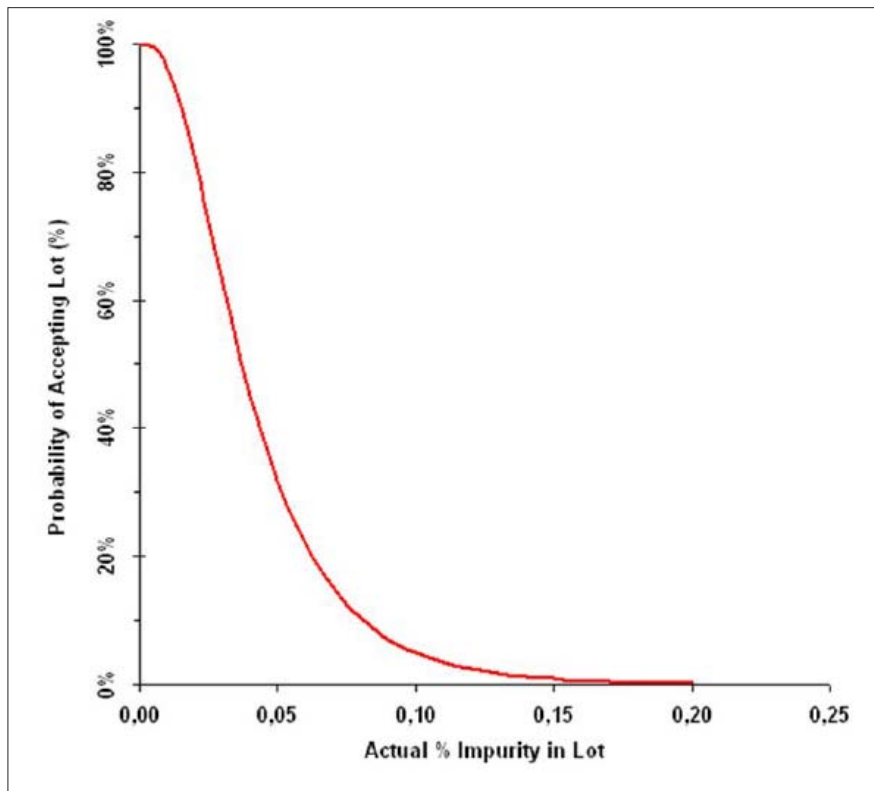


Abbildung 4: Operationscharakteristik für einen Prüfplan für eine quantitative Untersuchung, die ein LQL=0,1% und  $\beta = 5\%$  erreicht (Angaben zum Prüfplan im Text).

Anzumerken ist, dass eine derartige Definition von LQL und  $\beta$  zu einer recht steilen Kurve führen muss wenn die Erwartung besteht, dass GVO-freie Saatgutpartien praktisch fehlerfrei als solche erkannt werden. In diesem Fall nämlich muss die Operationscharakteristik in dem (engen) Bereich von 0 bis 0,1% von 100% Annahmewahrscheinlichkeit auf 5% abnehmen.

**Der „Vollzugsschwellenwert“ 0,1%**

Das Saatgutkonzept des UAM führt unter 3.2.2 und unter 3.3 aus (ANONYMUS

2006), dass bei positiven Befunden innerhalb der 3000 Samen weitere Untersuchungen und Quantifizierungen möglich oder gar notwendig seien und hierfür nun wird der „Vollzugsschwellenwert“ von 0,1% angeführt. Oftmals wird dabei die Ansicht vertreten, dass ein Zusammenlegen von Schwellenwert und Bestimmungsgrenze (auf 0,1%) eine zielführende Lösung darstelle, da alle Ergebnisse unterhalb des Schwellenwertes ja akzeptabel seien, deshalb auch nicht exakt quantifiziert werden müssten und alle Ergebnisse oberhalb des

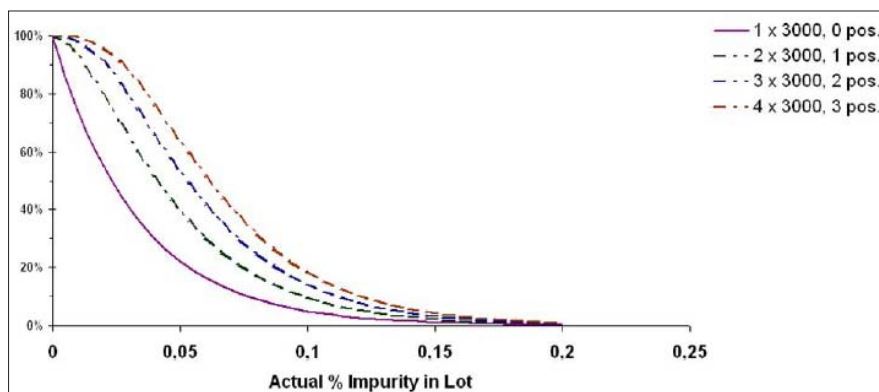


Abbildung 5: Operationscharakteristiken für die zusätzliche Untersuchung von Rückstellproben mit je 3000 Samen und der Entscheidungsgrenze, dass jeweils die letzte davon negativ sein muss.

Schwellenwertes ja quantifiziert werden könnten und somit dann auch ein konkretes „%“-Ergebnis für die Überschreitung des Schwellenwertes vorläge und den Beteiligten mitgeteilt werden könne. Eine Probengröße von etwa 3000 Samen, abgeleitet aus der bisherigen Praxis wird zudem als ausreichend angesehen. Ein solcher Prüfplan mit den daraus sich ergebenden Risiken für die Saatgutkäufer ist in *Abbildung 3* dargestellt. Klar ist zu erkennen, dass für Partien mit einer wahren Verunreinigung von 0,1% (LQL) die Annahmewahrscheinlichkeit 50% beträgt. Dies liegt deutlich über den geforderten 5% für  $\beta$  bei einem LQL von 0,1%. Dass dem so ist, ist auch vor dem Hintergrund naheliegend, dass aus einer Saatgutpartie mit einem wahren Anteil von 0,1% GV-Samen bei der Ziehung von Stichproben allein aufgrund der Zufälligkeit der Probenziehung etwa die eine Hälfte der Proben einen Probenwert von kleiner 0,1% besitzen wird und etwa die andere Hälfte einen Probenwert von größer 0,1%. Es wird sich also in etwa zu 50:50 aufteilen und nicht zu den geforderten 95 zu 5. Es ist also nicht zielführend, die Probengröße aus Prüfplänen für qualitative Nachweismethoden zu nehmen, und auf quantitative Annahmeregrenzen anzuwenden. Die Probengröße von 3000 Samen ist geeignet für die strengere Entscheidungsregel „GVO-haltig oder nicht“, und nicht für die großzügigere Regel „wenn GVO-haltig oberhalb von 0,1% oder nicht“. Falls dennoch ein LQL = 0,1% und ein  $\beta = 5\%$  mit quantitativen Untersuchungsmethoden erreicht werden sollen, sind aufwendigere Prüfpläne notwendig. Ein Beispiel zeigt *Abbildung 4*. Hier werden 2 Proben mit jeweils 4000 Samen vermahlen, aus dem Mahlgut werden jeweils zwei Mehlproben gezogen, an denen jeweils 2 Bestimmungen (also insgesamt 8) durchgeführt werden. Der Mittelwert der 8 Bestimmungen ist das zu berichtende Ergebnis. Die Methode muss eine Bestimmungsgrenze von unterhalb von 0,037% haben und alle Ergebnisse, die über 0,037% liegen müssen mit Maßnahmen belegt werden.

Unschwer ist zu erkennen, dass dieser Prüfplan wohl die Anforderungen erfüllt, jedoch aufgrund der Größe der Probe, die zu vermahlen ist, und aufgrund der nicht erreichbaren niedrigen Bestimmungsgrenze nicht realisierbar ist.



### Untersuchung von Rückstellproben

Alle hier dargestellten Prüfpläne und deren Risiken für Fehlentscheidungen über Saatgutpartien beruhen auf der Untersuchung der genau angegebenen Probengrößen in einem einmaligen Durchlauf. Die Prüfpläne sehen eine Entscheidung allein aufgrund der einmaligen Durchführung der Untersuchung an einer Einsendungsprobe vor. Eine „Bestätigung“ positiver Ergebnisse, die Maßnahmen nach sich ziehen, durch eine zweite Untersuchung ist nicht vorgesehen.

Dennoch kann ein solches Verfahren gewünscht sein. Dann verschieben sich aber die Risiken für die Beteiligten und

es sind neue Kennlinien zu erarbeiten wie das folgende Beispiel zeigt: Eine erste Untersuchung von 3000 Samen hat ein positives Ergebnis erbracht. Es ist eine sehr schwache, offensichtlich durch einen einzelnen GV-Samen verursachte Verunreinigung. Nach dem Prüfplan ist die Entscheidungsgrenze überschritten, die Saatgutpartie wäre mit Maßnahmen zu belegen. Es wird nun aber eine zweite Untersuchung durchgeführt und zwar an einer zur Verfügung stehenden Rückstellprobe. Diese Untersuchung brachte ein negatives Ergebnis. Hierauf wird die Saatgutpartie nicht mit Maßnahmen belegt. Die Frage ist nun, wie in diesem Fall das Konsumentenrisiko aussieht.

*Abbildung 5* zeigt die Ergebnisse. Es ist deutlich zu erkennen, dass das Konsumentenrisiko mit zunehmender Anzahl positiver Proben ansteigt. Die Definition  $LQL = 0,1\%$  und  $\beta = 5\%$  kann so nicht mehr eingehalten werden.

### Literatur

- ISTA, 2007: SeedCalc 7.01. [www.seedtest.org](http://www.seedtest.org)
- REMUND, K., D. DIXON, D. WRIGHT and L. HOLDEN, 2001: Statistical considerations in seed purity testing for transgenic traits *Seed Science Research* 11, 101-119.
- ANONYMUS, 2006: Konzept zur Untersuchung von Saatgut auf Anteile gentechnisch veränderter Pflanzen. Unterausschuss Methodenentwicklung der Bund/Länder-Arbeitsgemeinschaft Gentechnik. [www.lag-gentechnik.de/dokumente/Saatgutkonzept\\_2006.pdf](http://www.lag-gentechnik.de/dokumente/Saatgutkonzept_2006.pdf)

# Die ISTA-Akkreditierung für GVO-Untersuchungen im Rahmen des „Performance Based Approach“ Aus dem Blickwinkel der Labore

B. SPECK, G. SCHUON, N. LEIST und A. JONITZ

## Einleitung

Die ISTA (International Seed Testing Association) wurde im Jahr 1924 mit dem Ziel gegründet, Standardmethoden zu Probenahme und der Untersuchung von Saatgut zu entwickeln, zu validieren und in den ISTA-Vorschriften [1] zu veröffentlichen. Neben der Laborakkreditierung, der Durchführung regelmäßiger, problemorientierter Proficiency Tests und dem Angebot umfangreicher Weiterbildungsmaßnahmen leisteten diese Aktivitäten einen immensen Beitrag zur internationalen Vergleichbarkeit von Analyseergebnissen.

Vor elf Jahren begann der Anbau und Handel mit gentechnisch veränderten Organismen (GVO), ohne dass zeitgleich geeignete Methoden für die Einhaltung von Vorgaben etabliert waren. Daher startete die ISTA gemeinsam mit der International Seed Federation (ISF) und der OECD im Jahr 1998 eine Initiative, um Methoden für den Nachweis von GVO-Verunreinigungen in konventionellen Saatgutpartien zu etablieren.

## Reaktion der ISTA

Die hierfür gegründete International Seed Network Initiative (I.S.N.I.) stieß aufgrund der international stark unterschiedlichen Auffassung von Schwellenwerten bald an ihre Grenzen.

Daher beschloss die ISTA bereits im Jahr 2000 unabhängig von Grenzwerten eigenständig entsprechend ihrer Satzung Methodenentwicklungen voranzutreiben, mit dem Ziel diese später in die „Internationalen Vorschriften zur Prüfung von Saatgut“ aufzunehmen [2].

Bald war die Polymerase-Chain Reaktion (PCR) die Methode der Wahl. So genial und sensitiv diese innovative Technologie auch ist, so überaus sensibel ist sie auch in der Anwendung. Dies bedeutet, dass die Methoden eng an bestimmte Gerätetypen, aber auch an Reagenzien gebunden sind. So ist es gut möglich, dass eine extern vorzüglich validierte Methode mit der verfügbaren Ausrüstung weniger geeignet ist als eine validierte „Haus-Methode“.

Zugleich waren bei dem raschen wissenschaftlichen Fortschritt auf dem Gebiet der Dann-Untersuchung in kurzer Zeitfolge neue Methoden zu erwarten. So verabschiedete der Vorstand der ISTA Jahr 2001 ein Strategiepapier bezüglich „Methoden zur Erkennung, Identifizierung und Quantifizierung von gentechnisch veränderten Samen in konventionellem Saatgut.“ Unter anderem sind in diesem Strategiepapier folgende Aufgabengebiete skizziert:

1. Festlegung der Methodenanforderungen bezüglich Genauigkeit und Wiederholbarkeit und die entsprechende Aufnahme in Kapitel der ISTA-Vorschriften zur Erkennung, Identifizierung und Quantifizierung von GVO in konventionellem Saatgut.
2. Die Organisation verbindlicher und regelmäßiger Proficiency Tests durch die GMO Task Force.
3. Optimierung des Informationsaustausches durch eine ISTA-Webseite [3].

Damit weicht die ISTA in diesem besonderen Gebiet von ihrer bewährten Strategie „Einheitlichkeit der Methoden“ ab und benutzt den leistungsbezogenen Ansatz (performance based approach), in dem die Labore jede Methode benutzen können, aber in eigenen Validierungen und umfangreichen Ringtests nachweisen müssen, dass sie eine bestimmte Analysegenauigkeit erreichen.

## Der Performance based Approach (PBA)

Der Performance based Approach (PBA) wurde 2005 in die International Rules for Seed Testing aufgenommen (Kapitel 8, [1]) und trat im Februar 2006 in Kraft. Somit haben die Labore die Möglichkeit, die Methoden und Geräte zum Nachweis von GVO-Beimengungen in konventionellem Saatgut anzuwenden, die bei ihnen installiert sind.

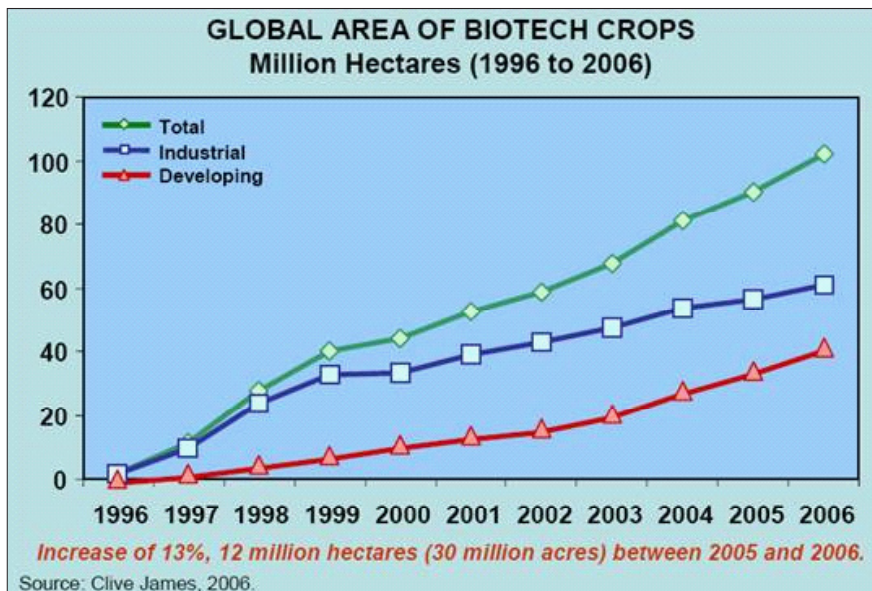


Abbildung 1: GVO-Anbauflächen seit 1996 (Quelle: Clive James; ISAAA Brief 35-2006)

**Autoren:** Dipl. Biol. Brigitte SPECK, Norbert LEIST und Andrea JONITZ, LTZ, Augustenberg, Neßlerstraße 23, D-76227 KARLSRUHE; G. SCHUON, ISTA Sekretariat, ZÜRICH

Für den Bereich der Untersuchungen auf gentechnisch veränderte Organismen hat sich die ISTA für eine neue Maßgabe entschieden (Abbildung 3).

Es stehen nicht die einheitlichen Methoden im Vordergrund, sondern einheitliche Anforderungen an die jeweilige Leistungsfähigkeit und Zuverlässigkeit. Das Ziel weltweit zu gewährleisten, dass ein Ergebnis maximal repräsentativ für die beprobte Partie bzw. Einsendeprobe ist, wird auch auf diesem Wege erreicht., da konkrete Mindestanforderungen zu Genauigkeit und Wiederholbarkeit vorgegeben werden.

Grundvoraussetzung für den PBA ist es, dass die Untersuchungen auf der Zumischung ganzer Samen beruhen, deren Reinheit zu prüfen ist. Die ISTA empfiehlt zur Überprüfung der Reinheit 400 Einzelkornuntersuchungen bei gv-Samen und 30 Untersuchungen zu je 1000 Samen bei der konventionellen Sorte.

Für die Akkreditierung des qualitativen Nachweises sind 30 Zumischungsproben mit jeweils 400 Samen notwendig, für die Akkreditierung der Quantifizierung 28 Proben mit jeweils 2000 Samen (Tabelle 1).

Für die qualitative Analyse entsprechen jeweils zehn Blindproben dem wahren Wert von 0%, 0,50% sowie 0,75%.

Für die quantitative Analyse müssen in

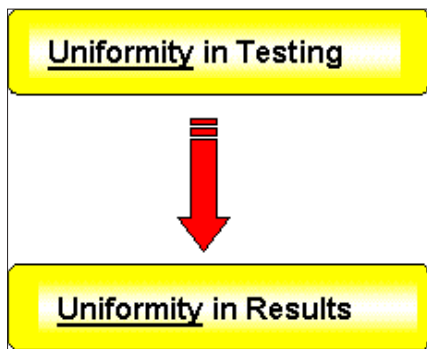


Abbildung 3: Die neue „Maßgabe“ der ISTA für biomolekulare Untersuchungen.

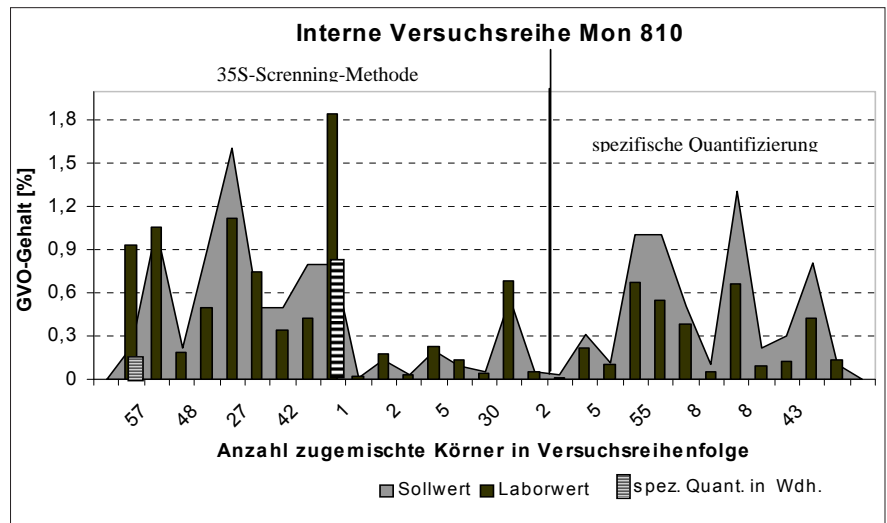


Abbildung 2: Ergebnisse aus interner Versuchsreihe; Vergleich der Quantifizierung auf Basis von 35S-Screening und der spezifischen Methode

Vierfachbestimmung die wahren Werte 0,1%, 0,5% und 1,0% abgedeckt werden. Ebenso müssen je vier unbekannte Proben in den Bereichen 0,1%-0,5%, 0,5%-1,0%, 1,0%-2,0%, 2,0%-3,0% untersucht werden (Tabelle 2).

Im Dezember 2006 erhielt das Labor des LTZ Augustenberg weltweit als zweites die Bestätigung über die Akkreditierung für die qualitative und quantitative Bestimmung von MON 810 in konventionellem Saatgut von Mais. Im Jahr 2007 konnte der Akkreditierungsumfang deutlich erweitert werden (Tabelle 3).

**Dem wahren Wert der Probe auf der Spur**

Dem hoheitlichen Auftrag entsprechend ist es die Aufgabe des Saatgutlabors,

den wahren Wert der Probe mit höchster Wahrscheinlichkeit zu erfassen. Die beprobte Saatgutpartie kann zum Beispiel bis zu 120 Millionen Maiskörner umfassen, von denen repräsentativ 3000 Korn für die Untersuchung gewaschen, getrocknet und vermahlen werden. In Doppelbestimmung werden 3 g des homogenisierten Mehls extrahiert. In die qualitative Analyse zum Beispiel gehen schlussendlich 200 ng DNA ein.

Die laborinterne Validierung wird mit Hilfe von Proben mit gezielten Zumischungen von GVO-Samen und, soweit auf dem Markt erhältlich, zertifizierten Standard-Mehlen durchgeführt. Zur Überprüfung der gesamten Methode wurden im Rahmen des Qualitätsma-

Tabelle 2: Anzahl Samen für die Zumischungsversuche, quantitativer Nachweis (PBA; Version 2.1)

	Seeds with specified trait(s)	Seeds without specified trait(s)
0.1% level	2 x 4 = 8	1998 x 4 = 7992
0.5% level	10 x 4 = 40	1990 x 4 = 7960
1% level	20 x 4 = 80	1980 x 4 = 7920
Blind level 1	9 x 4 = 36 max	1998 x 4 = 7992 max
Blind level 2	19 x 4 = 76 max	1990 x 4 = 7960 max
Blind level 3	39 x 4 = 156 max	1980 x 4 = 7920 max
Blind level 4	60 x 4 = 240 max	1960 x 4 = 7840 max
Total	636	55 584

Tabelle 1: Anzahl Samen für die Zumischungsversuche (PBA; Version 2.1)

	Seeds with trait(s)	Seeds without trait(s)	step	comments
Ability to check for presence/absence of specified trait(s)	50	11 950	ability to detect presence/absence of the specified trait(s)	30 samples of 400 seeds
Ability to check for quantification of presence of specified trait(s)	636	55 584	ability to quantify the specified trait(s)	28 samples of 2000 seeds
Approx. number of seeds	700	67 600		

nagements über 200 anonyme Kontrollproben mit unterschiedlichem GVO-Anteil hergestellt. Bei den Positivproben Körner der jeweiligen GVO-Sorte gezählt, gewogen und mit konventionellem Saatgut bekannter Tausendkornmasse auf ein Kilogramm Probenmenge ergänzt.

Das *Abbildung 2* zeigt deutlich, dass die spezifische Quantifizierung den wahren Wert der Probe im Rahmen der Möglichkeiten (verschiedene DNA-Anteile bei Mutterlinie oder Vaterlinie im Maiskorn) wesentlich besser erfasst als das weitaus weniger spezifische 35S-Screeningverfahren.

## Zusammenfassung

Der Performance based Approach ermöglicht eine schnelle Reaktion auf Entwicklungen in der Analytik.

Da die Labore ihre Kompetenz sowie die Eignung der gewählten Methoden in den „Performance data“ und durch die erfolgreiche Teilnahme am ISTA GMO Proficiency Test Programm sowie regelmäßige Konformitäts-Audits umfangreich belegen, ist die Qualität der Untersuchungsmethoden klar belegt. Die hieraus resultierende Vergleichbarkeit von Analyseergebnissen zwischen Laboren hilft Handelsbarrieren abzubauen.

Um mit höchster Wahrscheinlichkeit analytisch den wahren Wert der Untersuchungsprobe zu erfassen müssen die Nachweissysteme möglichst spezifisch sein. Für die entsprechende Validierung sind eigene Zumischungsversuche mit ganzen Samen unumgänglich, wofür jedoch eventspezifisches Referenzmaterial unabdingbar ist. Leider sind fast ausschließlich zertifizierte Mehle, vorgegebener GVO-Konzentration im Handel. Die ISTA stellt sich auch dieser Herausforderung indem die GMO Task Force in diesem Sommer eine Arbeits-

Annex to the Accreditation Certificate - Performance Approved				
Species	Testing principle	Trait	Qual./Quant.	Reference
Brassica napus	PCR	GT200/GT73	Qual.	23-ME-0808
		GT73	Quantitative	23-ME0812, II
Glycine max		GTS 40-3-2	Qual.	23-ME-0806
		GTS 40-3-2	Quantitative	23-ME-0807, II
Zea mays		Bt 176	Qual.	23-ME-0803
		T 25	Qual.	23-ME-0803
		MON 810	Qual.	23-ME-0803
		MON 863	Qual.	23-ME-0803
		35S Promoter	Qual.	23-ME-0803
		NOS Terminator	Qual.	23-ME-0803
		Bt 11	Qual.	23-ME-0803
		GA 21	Qual.	23-ME-0803
		CBH 351	Qual.	23-ME-0803
		NK 603	Qual.	23-ME-0803
		MON 810	Quantitative	23-ME-0809
Bt 11	Quantitative	23-ME-0809		
Bt 176/E176	Quantitative	23-ME-0803		

Tabelle 3: ISTA-Akkreditierungsumfang: „Performance Approved Methods“

gruppe zur Beschaffung von GV-Samen gegründet hat.

## Ausblick

Die Wunschliste bezüglich reiner Samen diverser Gentechnisch Veränderte Organismen verschiedener Kulturarten an die neue Arbeitsgruppe der GMO-Task-Force hat einen respektablen Umfang:

### Mais

Mon810, 591225 „Herculex“1507, 1507 x 59122,1507 x NK603, 3272, 59122 „Herculex“, 59122 x 1507 x NK603, 59122 x NK603, Bt11, Bt176, GA21, GA21 x MON810, LY038, LY038 x MON810, MIR604, MON810, MON863, MON863 x MON810, MON863 x MON810 x NK603, MON863 x NK603, MON88017, MON88017 x MON810, MON89034, MON89034 x MON88017, MON89034 x NK603, NK603, NK603 x MON810, T25

### Raps

GT 73 (bei AOCS erhältlich), GS40 / 90pHoe6 / Ac, Liberator pHoe6/Ac, MS1

x RF1, MS1 x RF2, MS8 x RF3, T45, TOPAS 19/2

### Soja

A2704-12; 305423; 356043, MON40-3-2, MON40-3-2, MON89788, A2704-12, 305423

Der umfassende und regelmäßige Leistungsnachweis ist eine immerwährende Herausforderung für die Labore. So bleibt der Anteil der Untersuchungsproben im Rahmen der Qualitätssicherung im Bereich der GVO-Analytik auch weiterhin sehr hoch.

„Akkreditierung ist die formelle Anerkennung der Kompetenz“ [Zitat, 3].

## Literatur

- [1] International Rules for Seed Testing; Edition 2007/1, The International Seed Testing Association, Bassersdorf, CH-Switzerland
- [2] LEIST, N. und M. KRUSE, 2005: Position der ISTA zum Nachweis von GVO-Beimengungen im Saatgut, Ausgewählte Vorträge aus GPZ-Arbeitsgemeinschaften, Heft 67, 228-232, Verlag Liddy Halm, Göttingen.
- [3] www.seedtest.org.
- [4] Bundesamt für Sicherheit und Informationstechnik, Akkreditierung von Prüfstellen.

# Strategien zur Vermeidung von GVO-Verunreinigungen bei Saatgut - Optimierung des GVO-Monitorings in Österreich

C. LEONHARDT, J. HARTMANN und L. GIRSCH

## Nationale Rechtsgrundlagen - Gesetze und Verordnungen

Das österreichische System zur Saatgut-zertifizierung wird gemäß Saatgut-gesetz 1997 (SaatG 1997), welches auf Vorgaben der OECD und der EU basiert, umgesetzt. Rechtsnormen, die einen besonderen Bezug zur Verhinderung von GVO-Verunreinigungen haben und der Umsetzung des SaatG 1997 dienen, sind die Saatgutverordnung 2006, Saatgut-Gentechnik-Verordnung 2001 sowie die Saatgut-Anbaugebiete-Verordnung 2005.

Zusätzlich dienen derzeit unter anderem folgende nationale Rechtsnormen der **Regelung von Freisetzung und Inverkehrbringung von GVO in Österreich:**

- Gentechnikgesetz 1994
- Gentechnikvorsorgegesetze der Länder
- Verbot des Inverkehrbringens von gentechnisch verändertem Mais mit der kombinierten Veränderung der Insektizidwirkung des BT-Endotoxins und erhöhter Toleranz gegenüber dem Herbizid Glufosinatammonium („Bt 176“), 1997
- Verbot des Inverkehrbringens des gentechnisch veränderten Mais *Zea Mays* L., Linie MON 810, in Österreich, 1999
- Verbot des Inverkehrbringens des gentechnisch veränderten Mais *Zea Mays* L. T25 in Österreich, 2000
- Verbot des In-Verkehr-Bringens von gentechnisch verändertem Raps aus der Ölrapslinie GT73 in Österreich, 2006

In den **Methoden für Saatgut und Sorten** gemäß § 5 SaatG 1997 (BAES 2007) werden vom Bundesminister für

Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft Standards, technische Vorschriften und technische Verfahren hinsichtlich der Anforderungen an Saatgut einschließlich seiner Erzeugung und Sorten, Probenahme, Untersuchungen und Nachprüfungen, sowie Kennzeichnung und Verpackung und Verschließung festgesetzt.

Die **Saatgut-Gentechnik-Verordnung 2001** regelt die zulässige Verunreinigung von Saatgut mit gentechnisch veränderten Organismen, sowie die Kennzeichnung von GVO-Sorten und Saatgut von GVO-Sorten. Sie ist gültig für die Arten:

Kohlrübe (*Brassica napus* L. var. *nabobrassica*), Mais (*Zea mays*), Raps (*Brassica napus*), Rübsen (*Brassica rapa*), Sojabohne (*Glycine max*), Stoppelrübe, Herbstrübe, Mairübe (*Brassica rapa* L. var. *rapa*), Tomate (*Lycopersicon lycopersicum*) als Verarbeitungssorten, Zichorie (*Cichorium intybus* L.) und verfügt über klar festgelegte Grenzwerte für die Verunreinigung von Saatgut von Nicht-GV-Sorten mit GVO (-O- bei der Erstuntersuchung bzw. 0,1% in der Nachkontrolle auf definierter methodischer Basis). Es handelt sich hier nicht um Schwellenwerte zur Kennzeichnung, sondern um Grenzwerte für den Ausschluss von der Inverkehrbringung!

Die **Anforderungen an die GVO-Analytik** sind in den Methoden für Saatgut und Sorten festgelegt: Kleinste Bezugsgröße für die Angabe einer Verunreinigung ist ein Same. Die Arbeitsprobe muss zumindest 3000 Samen umfassen und besteht aus der Fraktion „reiner Samen“ und „Samen anderer Arten“ gem. Methoden zur Bestimmung der technischen Reinheit.

Untersuchungsmethodik und -plan sind so festzusetzen, dass jedenfalls 1

gentechnisch veränderter Same in 3000 Samen nachgewiesen werden kann.

Der Untersuchungsbericht muss unter anderem folgende Anforderungen erfüllen:

Klare Identifikation der Probe zumindest mit Referenznummer der Saatgutpartie, Beschreibung der Saatgutbehandlung, verantwortliche Probenahmeorganisation und Beschreibung der Untersuchungsmethode und des Ergebnisses.

## GVO Monitoring Programm - Rückblick

Im **Österreichischen Aktionsplan von 2001** erfolgte eine GVO-Untersuchung sämtlicher in Österreich für die Anbausaison 2000/2001 verwendeten Ausgangssaatgutpartien, sowie eine stichprobenartige Untersuchung bei anerkanntem bzw. zertifiziertem Saatgut der Arten Raps, Sojabohne und Mais.

Gleichzeitig wurde ein umfangreiches **Monitoring-Projekt in der Saatgutproduktion bei Mais** (GIRSCH et al. 2001) durchgeführt:

Analysiert wurde zunächst das Potential der GVO-Verunreinigung bei abweichenden Typen, definiert als „Outcrosses“, bei Elternkomponenten im Nachkontrollanbau, des Weiteren stichprobenartig die potentielle Verunreinigung bei Outcrosses in Elternkomponenten der Saatgutproduktionen.

Im dritten Schritt erfolgte eine stichprobenartige Analyse sowohl bei sortenidenten und als auch bei abweichenden Typen bei Elternkomponenten und Erntegut in der Saatmaisproduktion, bei denen in der männlichen Elternkomponente im Rahmen der Untersuchungen des Aktionsplanes eine geringfügige Verunreinigung mit in der EU (in Saatgut) zugelassenen GVO ermittelt worden war.

**Autoren:** Dipl.-Ing. Charlotte LEONHARDT, J. HARTMANN und Ing. Leopold GIRSCH, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Saatgut, Spargelfeldstraße 191, A-1226 WIEN, charlotte.leonhardt@ages.at

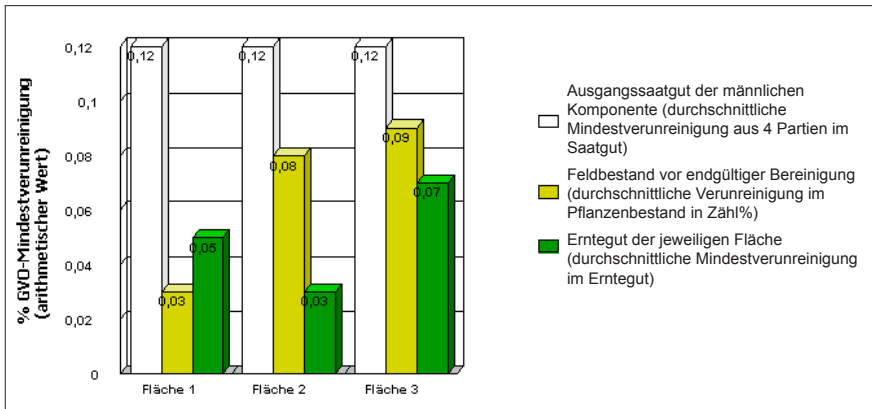


Abbildung 1: Darstellung der GVO-Mindestverunreinigung im Saatgut bzw. im Feldbestand (Basis: qualitative Quantifizierung im Saatgut)

Die Verunreinigung des Ausgangssaatgutes bestätigte sich am Feld nach GVO-Analyse der Outcrosses, wobei mehr als 85% der gefundenen Outcrosspflanzen einen positiven GVO-Nachweis erzielten. Durch gezielte Bereinigung konnte die GVO-Verunreinigung im Erntegut reduziert werden (siehe Abbildung 1).

Das Erntegut wies tendenziell eine geringere GVO-Verunreinigung als das Ausgangssaatgut auf. Die Hypothese, dass durch gezielte Selektions- und Bereinigungsmaßnahmen - in Zusammenarbeit mit den Saatgutvermehrungsfirmen, Vermehrern und Feldbesichtigungsorganen der Landwirtschaftskammern - eine Verringerung der Höhe der GVO-Verunreinigung technisch erzielbar sein müsste, wurde bestätigt.

Aus den Ergebnissen dieses Monitoring-Projektes erfolgte als erste Maßnahme

die Änderung der Methoden für Saatgut und Sorten: „Eine Bereinigung der Elternkomponente ist im Jungpflanzenstadium zweckmäßig. Dies dient insbesondere der Reduktion von potentiellen GVO-Verunreinigungen im Vermehrungsbestand.“

Eine Auswertung des Anteils der Fremdtypen (Selbstungen + Outcrosses) im Kontrollanbau und somit das Potential von GVO-Verunreinigungen zeigt Abbildung 2.

### GVO Überwachungs- und Monitoringplan

Der seit 2002 umgesetzte österreichische Monitoringplan (GIRSCH et al. 2004, 2006) umfasst folgende Bereiche:

1. Anerkennungs- und Zulassungsverfahren von Saatgut in Österreich

2. Inverkehrbringung von Saatgut aus EU und/oder Drittländern
3. Sortenzulassung
4. Vermehrungssaatgut - Feldanerkennung und Kontrollanbau

ad 1. Im Rahmen des österreichischen Anerkennungs- und Zulassungsverfahrens werden Audits bei den Saatgutunternehmen durchgeführt, wobei der Schwerpunkt auf die QM-Systeme der Produzenten gelegt wird. Gleichzeitig erfolgt eine Probenahme und GVO-Untersuchung von Saatgutpartien, die Checkrate liegt zwischen 5-10% der in Österreich anerkannten/zugelassenen Partien.

ad 2. Bei Saatgut aus EU und/oder Drittländern erfolgen im Rahmen der Saatgutverkehrskontrolle sowohl Audits bei den Saatgutunternehmer/Inverkehrbringern als auch eine Probenahme und GVO-Untersuchung von in Österreich in Verkehr gebrachten Partien (Checkrate 40-50%).

ad 3. Bei 10-20% der Sorten im Zulassungsverfahren wird eine GVO Untersuchung durchgeführt.

ad 4. Die Checkrate bei Vermehrungssaatgut liegt zwischen 5 und 10% der in der österreichischen Saatgutproduktion verwendeten Ausgangssaatgutpartien.

Am Beispiel Mais zeigen sich die Risikofaktoren für die österreichische Saatgutproduktion:

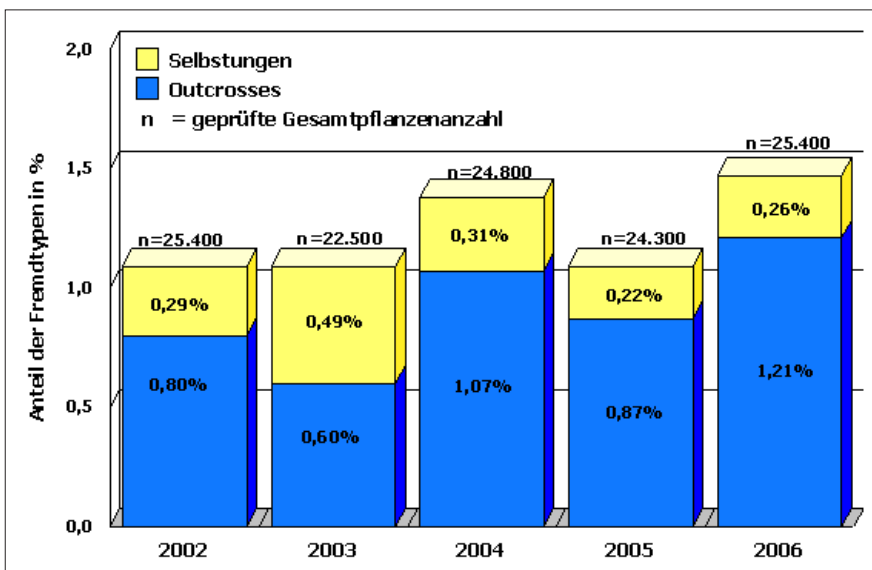


Abbildung 2: Auswertung des Anteils der Fremdtypen (Selbstungen + Outcrosses) in der Nachprüfung von Z-Partien bei Mais (*Zea mays*) im Zeitraum 2002 bis 2006

der Bedarf an Ausgangssaatgut für die Feldproduktion wird größtenteils mit Saatgut aus dem EU-Raum, aber auch aus Drittstaaten mit hohem Anteil an GVO im Maisanbau (vor allem USA, Chile) gedeckt; weiters stammen die in Österreich produzierten Maissorten großteils (ca. 97%) von ausländischen Ursprungs- und Erhaltungszüchtern.

Im Zuge von Feldanerkennung und Kontrollanbau werden zusätzlich Blattproben untersucht, die Überprüfung der abweichenden Typen im Vermehrungsbestand stellt eine besonders sensible Möglichkeit zur Ermittlung potentieller GVO-Verunreinigungen dar. Stichprobenartig werden Saatgutproduktionsflächen in einem frühen Entwicklungsstadium und vor der endgültigen Bereinigung überprüft.

**Tabelle 1: GVO Monitoring Programm, Ergebnisse Saatgutpartien - Mais, Sojabohne und Raps**

Saison	Anzahl untersuchter Saatgutpartien	davon positiv
2002/03	209	4 *1
2003/04	178	1 *1
2004/05	159	4 *1
2005/06	180	4 *1 + 1 *2
2006/07	169	3 *1

\*1) Seitens der Antragsteller auf Saatgutenerkennung wurde ein den Anforderungen gem. Methoden für Saatgut und Sorten konformes GVO-Untersuchungszertifikat mit negativen Erstuntersuchungsergebnis vorgelegt oder der Antrag auf Zulassung wurde zurückgezogen. Anforderungen an die Saatgut-Gentechnik-Verordnung somit erfüllt.

\*2) Das vom Antragsteller auf Saatgutenerkennung vorgelegte GVO-Untersuchungszertifikat wurde aufgrund substantieller Mängel nicht als Erstuntersuchung gewertet. Die Partie erfüllte somit NICHT die Anforderungen der Saatgut-Gentechnik-Verordnung. Die entsprechenden Maßnahmen gemäß Saatgutgesetz 1997 idGF wurden im Rahmen der Saatgutverkehrskontrolle eingeleitet. Es wurde seitens des Bundesamtes eine Anzeige gem. Saatgutgesetz 1997 idGF an die zuständige Bezirksverwaltungsbehörde weitergegeben.

## Ergebnisse

Die Darstellung der Ergebnisse seit der Umsetzung des Monitoringplanes erfolgt in *Tabelle 1* mit der Zusammenfassung der Untersuchungsergebnisse der untersuchten Saatgutpartien und *Tabelle 2*, die einen Überblick über die untersuchten Blattproben gibt.

Die detaillierten Berichte finden sich auf der Homepage der Österreichischen Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit unter [www.ages.at](http://www.ages.at).

## Zusammenfassung

Seit 2002 werden in Österreich GVO-Überwachungs- und Monitoringmaßnahmen bei den Kulturarten gemäß Saatgut-Gentechnik-Verordnung, insbesondere bei Mais, Sojabohne und Raps, im Kontext mit den gesetzlichen Grundlagen durchgeführt. Besonderer Schwerpunkt ist der Einsatz einer umfassenden Vermeidungsstrategie:

- durch Vorsorgemaßnahmen wie Anpassung der Methoden für Saatgut und Sorten und umfassende Prozess-

**Tabelle 2: GVO Monitoring Programm, Ergebnis Blattproben - Mais, Sojabohne und Raps**

Saison	Anzahl Blattproben	davon positiv	Betroffene Vermehrungsfläche
2002/03	271	2 *3	42,70 ha
2003/04	304	0	-
2004/05	314	4 *3	601,95 ha
2005/06	417	0	-
2006/07	217	3 *3	121,52 ha

Die Bonitur und Beprobung der Saatgut-Vermehrungsbestände erfolgte im Jungpflanzenstadium, d.h. noch vor der Blüte.

\*3) Aufgrund der GVO-Untersuchungsergebnisse wurden seitens des Bundesamtes für Ernährungssicherheit ein Maßnahmenkatalog zur Vermeidung eines Gentransfers in und aus der Feldvermehrung und in der Saatgutaufbereitung mit Vorschreibung strikter Maßnahmen im logistischen Bereich obligat vorgeschrieben und überwacht.

analysen vom Vermehrungssaatgut bis zum Verbrauchssaatgut (Z-Saatgut) gemeinsam mit allen Beteiligten in der Produktion und Überwachung

- durch Evaluierung und stichprobenartige Überprüfung der gesetzten Maßnahmen auf die Zielerreichung: durch die Etablierung von Probenplänen für Untersuchungen in Abhängigkeit des potentiellen Risikos einer GVO-Verunreinigung des Saatgutes; mit besonderem Schwerpunkt für Überprüfungen des Ausgangssaatgutes und des Einsatzes sensibler, effektiver und effizienter Untersuchungsmethoden am Feld in Kombination mit Labormethoden; sowie durch Überprüfung der Nachvollziehbarkeit der Identitäten und Maßnahmen in den Prozessen auf Firmenebene durch Überwachungs-Audits und Kontrollen des in Verkehr gebrachten Saatgutes.

Durch dieses Konzept der Vorsorgemaßnahmen und den Einsatz von Kontrollpunkten an den Schnittstellen in den Prozessen der Saatguterzeugung wurde ein sensibles Qualitätssystem zur Vermeidung von GVO-Verunreinigungen in der österreichischen Saatgutproduktion geschaffen.

## Literatur

ANONYMUS, 2001: Saatgut-Gentechnik-Verordnung 2001: BGBl. II Nr. 478/2001, 478. Verordnung des Bundesministers für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft über die Verunreinigung von Saatgut mit gentechnisch veränderten Organismen und die Kennzeichnung von GVO-Sorten und

Saatgut von GVO-Sorten (Saatgut-Gentechnik-Verordnung), 21. Dezember 2001.

BUNDESAMT FÜR ERNÄHRUNGSSICHERHEIT (BAES), 2007: Amtliche Nachrichten. Methoden für Saatgut und Sorten des Bundesministers für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft. <http://www.ages.at>

BUNDESKANZLERAMT ÖSTERREICH, 2007: Rechtsinformationssystem. <http://www.ris.bka.gv.at/bundesrecht/>

BUNDESMINISTERIUM FÜR GESUNDHEIT, FAMILIE UND JUGEND, 2007: Gentechnik Rechtsvorschriften in Österreich. <http://www.bmgfj.gv.at>

EU, 2000: Freiwilliger Aktionsplan - Zufällige GVO-Verunreinigung in Saatgut in der EU (2000): Short Report of the meeting of the Standing Committee on Seeds and Propagating Material for Agriculture, Horticulture and Forestry held on 10 July 2000. Sole item of the Agenda: Further Exchange of views on finding of adventitious presence of GMO Seed in NON-GMO-Varieties, Brüssel, 18.09.2000, SANCO E.1 D (2000) 11395.

GIRSCH et al., 2001: Bericht: Über das Monitoring einer möglichen Verunreinigung mit zugelassenen und nicht zugelassenen Gentechnisch Veränderten Organismen (GVO) im Rahmen der Überwachung der Anerkennung von Mais-saatgut in Österreich. BFL, Wien 2001.

GIRSCH et al., 2004: Die Produktion von Saatgut in abgegrenzten Erzeugungsprozessen zur Vermeidung einer Verunreinigung mit Gentechnisch Veränderten Organismen im Kontext mit der Koexistenz von konventioneller Landwirtschaft mit oder ohne GVO und ökologischer Landwirtschaft. AGES/BAES, Institut für Saatgut, Wien 2004.

GIRSCH et al., 2006: Untersuchungen zur Fremdbefruchtungsrates in Maiskulturen unter Berücksichtigung der Umwelten in den Hauptanbaugebieten Österreichs. AGES, BOKU.

HARTMANN, J., 2003: GVO und Saatgut/Sorten. Grundschulung Feldbesichtigung 2003/2004, AGES Wien, 20. November 2003.

# Systemoptimierung der Sortenzulassung/ Saatgutertifizierung durch Autorisierung

H. W. LUFTENSTEINER und A. RATZENBÖCK

## Systemoptimierung der Sortenzulassung durch Autorisierung

Die Vorläuferorganisationen der AGES führten seinerzeit die Register- und Wertprüfung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen im Zuge der Sortenzulassungsprüfung ausschließlich auf eigenen Versuchstationen und von diesen Institutionen direkt betreuten Streuversuchen auf Flächen landwirtschaftlicher Betriebe durch. Optimierungsvorgaben für den Zulassungsbereich sowie der Wunsch der Antragsteller, den Umfang der Anmeldekandidaten bei bestimmten Kulturarten (Winterweizen, Körnermais etc.) wesentlich zu erhöhen, führten zur Einbindung österreichischer Antragsteller in die Versuchsdurchführung zur Bestimmung des Landeskulturellen Wertes. So flossen bei Körnermais ab 1992, Zuckerrübe ab 1994 und bei Getreidearten

ab 1995 orthogonale Ertrags- und Beobachtungsdaten externer Versuchsansteller in die Wertprüfungsberichte für das Sortenzulassungsverfahren ein. In den folgenden Jahren kam es zusätzlich auch bei Ölkürbis und Mohn zur Einbindung externer Partner in die Wertprüfung des ersten Jahres.

Mit dem EU-Beitritt Österreichs waren auch die bis dahin rein nationalen Verfahren und Vorgehensweisen im Sortenzulassungsverfahren (Abbildung 1) den nationalen und internationalen Bedingungen anzupassen. Dies führte dazu, dass die Einbeziehung externer Versuchsansteller im Zuge des Saatgutgesetzes 1997 und der Gesetzesanpassungen im Jahr 2000 ihre Berücksichtigung fand. Das Saatgutgesetz 1997 sieht deshalb in der Novellierung des Jahres 2000 im Paragraph 40 (1) explizit vor, dass externe Institutionen vom Bundesamt für

Ernährungssicherheit (BAES) oder der Sortenzulassungsbehörde auf Antrag zur „...Durchführung von Feldversuchen im Rahmen der Sortenzulassungsprüfung ermächtigt“, bedeutet autorisiert werden können. Mit der Saatgutverordnung 2006 wurde diese Ermächtigung in §10 auch auf die Laboruntersuchungen im Rahmen der Sortenzulassungsprüfung ausgeweitet (Tabelle 1). Hilfreich und logisch für diese Vorgangsweise war, dass die AGES, wie auch ihre Vorgängerinstitution, akkreditiert war und ist. Durch die Akkreditierung wird ein lebendes und erfolgreiches Qualitätsmanagementsystem in allen Verfahrensbereichen der AGES/Institut für Sortenwesen - neben dem Labor - somit auch dem Feldversuchsbereich - dokumentiert und nachgewiesen.

Die Autorisierung geeigneter versuchsdurchführender Institutionen und Fir-

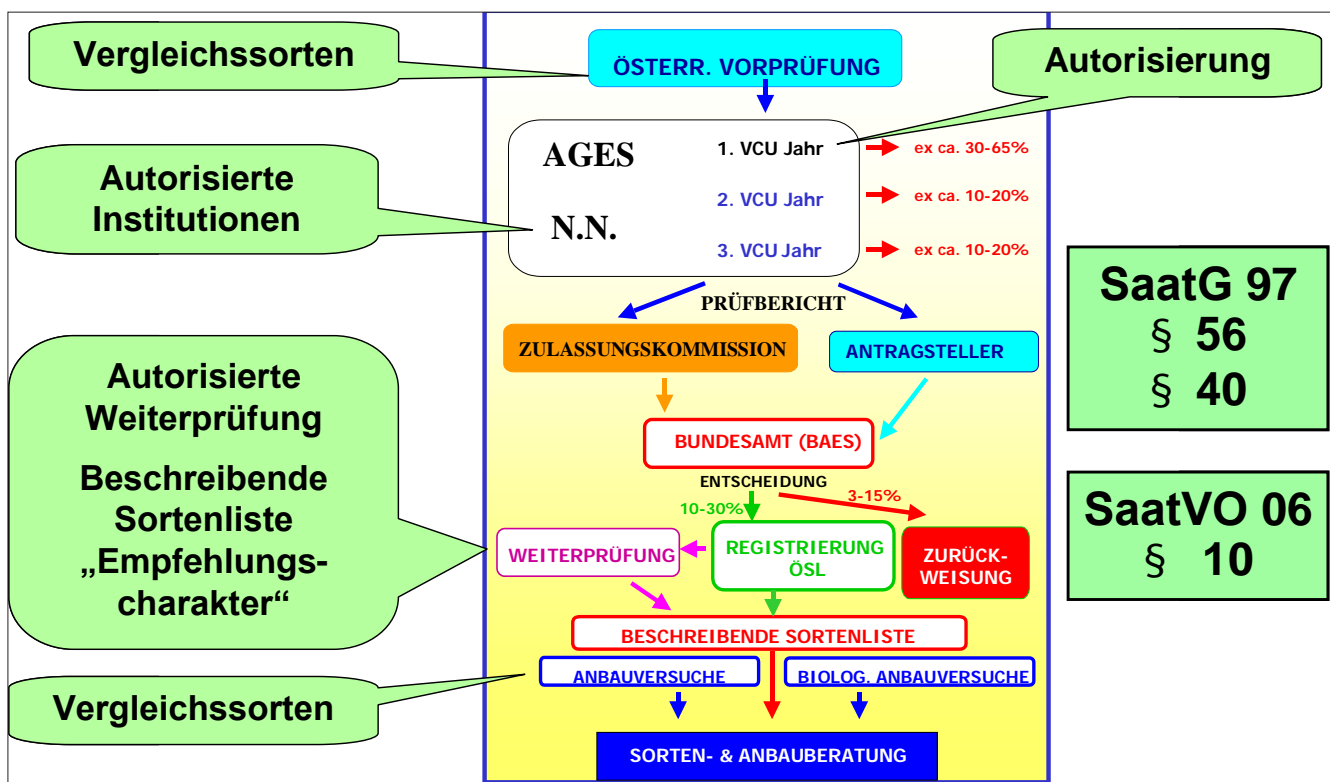


Abbildung 1: Österreich 2007 - Sortenzulassungssystem

**Autoren:** Dr. Horst W. LUFTENSTEINER, Institut für Sortenwesen und Dipl.-Ing. Andreas RATZENBÖCK, Institut für Saatgut, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES), Spargelfeldstraße 191, A-1226 WIEN



Tabelle 1: Zeitliche Entwicklung

• Einbeziehung von Feldversuchen externer Versuchsansteller Servicierung der WP1-Verrechnung zwischen den externen Versuchsanstellern durch AGES	→ seit 1992
• „Autorisierungsermächtigung für Feldversuche“	→ seit 2000
• „Autorisierungsermächtigung für Labor- und Felduntersuchungen“	→ seit 2006
• Aufnahme der Autorisierung im Gebührentarif „Sortenordnung“	→ seit 2005

men findet somit durch die hierzu befähigte und akkreditierte AGES für die Wertprüfung (VCU) - nicht für die Registerprüfung - statt. Die betroffenen Mitarbeiter der AGES selbst sowie der autorisierten Institutionen haben verpflichtend an regelmäßigen Boniturschulungen der AGES für die betreffenden Kulturarten teilzunehmen. Die technischen Vorschriften und Verfahren hinsichtlich der Anforderungen an die Sortenprüfung (Register- und Wertprüfung) wurden vom Bundesminister für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft gemäß Saatgutgesetz 97 § 5 verordnet und sind für alle Systembeteiligten bindend. Diese Autorisierungen finden analog auch für die versuchsdurchführenden Institutionen für die Österreichische Beschreibende Sortenliste Anwendung.

In den letzten Jahren nahmen jeweils zwischen zehn und fünfzehn versuchsdurchführende Institutionen die Autorisierung in Anspruch. Dies deshalb, weil bei Mohn und Ölkürbis nicht jedes Jahr neue Zulassungsprüfungen angelegt werden.

Die Autorisierungsmöglichkeit wirkt sich natürlich auf den Gebührentarif der Sortenordnung aus. Einerseits ist sowohl die Erstautorisierung als auch die Autorisierungsverlängerung gebührenpflichtig. Die Prüfgebühr vermindert sich jedoch für das autorisierte erste Wertprüfungsjahr je nach Kulturart pro Prüfstamm deutlich. In dieser Prüferie (WP1) führt nämlich die AGES nur mehr einen oder zwei Versuche selbst durch. Die in diesen Prüfungen anfallenden Kosten werden durch die jeweiligen Versuchsansteller den in dieser Versuchsserie vertretenen Antragstellerfirmen direkt verrechnet. Die Arbeiten in den folgenden Prüfjahren werden zur Gänze durch die Versuchseinrichtungen der AGES durchgeführt und vergibt.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass es durch die Autorisierung von Einrichtungen im Zuge der Wertprüfung

zur Bestimmung des Landeskulturellen Wertes bestimmter landwirtschaftlicher Pflanzenarten zu einer Systemvereinheitlichung kam. Nunmehr handelt es sich um ein offenes, gewachsenes, erprobtes und in der Folge institutionalisiertes und transparentes Prüfsystem. Ein Vorteil der Einbindung Autorisierter in das Wertprüfungssystem im ersten Jahr ist es auch, dass dadurch umfangreichere Sortimente als in der Vergangenheit zum Vorteil der gesamten Landwirtschaft sowie nachgelagerten Verarbeitungs- und Lebensmittelkette geprüft werden können. Durch die Einbindung Autorisierter konnte der Untersuchungsumfang bei einigen Kulturarten wesentlich ausgeweitet werden.

### Systemoptimierung durch Autorisierung in der Saatgutertifizierung

In Verbindung mit dem EU-Beitritt Österreichs sowie den Fragestellungen zur Verwaltungsreform im Sinne von: „Was muss der Staat tun?“ sowie der Implementierung von Qualitätsmanagementsystemen wie ISO 9000-Serie bzw. EN 45000-Serie wurden mit dem Saatgutgesetz 1997 grundsätzlich die Möglichkeiten für die Autorisierung geschaffen. Im § 40 sind die verschiedenen Tätigkeiten hinsichtlich einer möglichen Ermächtigung angeführt. Weiters werden die Voraussetzungen an die Durchführung der technischen Aufgaben sowie verschiedene Gründe für die Aufhebung der Ermächtigung genannt. Die Details der Durchführung sind in der Saatgutverordnung 2006 ausgeführt.

Die im SaatG 1997 bzw. der genannten Saatgutverordnung aufgezählten Tätigkeiten sind insbesondere die Feldbesichtigung (Prüfung der in den Methoden festgesetzten Anforderungen an den Feldbestand der Vermehrungsfläche), die Laborprüfung (Untersuchungen im Rahmen der Verfahren auf Anerkennung oder Zulassung von Saatgut), Untersuchungen im Rahmen der Nachprüfungen und die repräsentative Probenahme (Durchführung

der Kennzeichnung, Verpackung und Verschließung).

Seit zusätzlich die internationalen Regelungen zum Saatgutrecht, insbesondere seitens der Europäischen Union (EG-VO 98/320) und seitens der OECD im Rahmen von Experimenten eine Autorisierung von Feldbesichtigung, Probenahme und Laborprüfungen durch nicht offizielle Personen ermöglichten, wurde in Österreich in Verantwortung des damaligen BFL - Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft rasch mit der Saatgutwirtschaft gemeinsam mit der praktischen Umsetzung gestartet. Mit der Implementierung der EG-RL 2004/117 des Rates vom 22. Dezember 2004 wurden letztlich die Basisrichtlinien des EG-Saatgutrechtes dahin gehend erweitert, dass zukünftig nichtamtliche Prüfungen für die Bereiche Feldbesichtigung, Probenahme und Laborprüfung ermöglicht wurden. Zur Entscheidungsfindung bei Laborprüfungen könnte Österreich mit der Abwicklung von umfangreichen Versuchen im Rahmen zweier EG-Vergleichsfelder erfolgreich beitragen. Die Versuche hatten schließlich bestätigen können, dass die Saatgutankennung ohne nennenswerten Rückgang der Saatgutqualität im Vergleich zu der mit dem System der amtlichen Durchführung erzielten Qualität vereinfacht werden kann.

### Der aktuelle Stand an Autorisierungen ist nachfolgender:

Feldbesichtigung mit den Schwerpunkten in den Kulturartengruppen Getreide, Mais und Großsamigen Leguminosen mit aktuell fünf Saatgutunternehmen. Bei Getreide wird in der Regel beim Vermehrungsmaterial die erste verpflichtende Besichtigung autorisiert durchgeführt. Für Mais ist die Durchführung der Feldbesichtigung üblicherweise umfassend.

Die Beschaffung und die Anwendung von Etiketten zur Kennzeichnung von Saatgut sind in Österreich zur Gänze autorisiert. Ebenso verhält es sich mit der Nutzung der Technischen Einrichtung zur

Automatischen Probenahme an der Saatgutpartie. Die eigentliche Durchführung der repräsentativen Probenahme ist erst seit November 2006 möglich und wird momentan durch Schulungsmaßnahmen und Festlegung der Methodik seitens des Bundesamtes für Ernährungssicherheit umgesetzt.

Die Durchführung von Laboruntersuchungen im Rahmen der Saatgutertifizierung bzw. Zulassung wird durch fünf Unternehmen in unterschiedlichem Ausmaß genutzt. Die Hauptkulturen Getreide und Mais werden mit mehr als 80% autorisiert geprüft. Der Anteil bei Großsamigen Leguminosen wie Erbse, Ackerbohne und den gesetzlich geregelten Wickenarten beläuft sich auf ca. 60%. Bei ausgewählten Kreuzblütlern - v.a. Raps und Gelbsenf - liegt der Anteil um die 30% der Saatgutpartien aus dem Anerkennungsverfahren. Die Kriterien der Beschaffenheit des Saatgutes bei den Laborprüfungen umfassen normalerweise die Technische Reinheit, den Besatz mit Samen anderer Arten, die Tausend-kornmasse sowie die Keimfähigkeit.

Die Prüfung des Gesundheitszustandes bei Getreide oder Großsamigen Leguminosen wird mit Ausnahme des Flugbran-

des bei Gerste und Weizen ausschließlich durch die AGES abgewickelt. Weiters sei hier erwähnt, dass Untersuchungen im Sinne einer Mängelbehebung in Bezug auf die Feldbesichtigung bzw. Untersuchungen zur Ausstellung eines ISTA-Orange-Zertifikates, außer eine aufrechte ISTA-Akkreditierung liegt vor, dem Bundesamt vorbehalten sind.

Im System der verschiedenen Autorisierungen ist die Überwachung oder das sogenannte Monitoring von zentraler Bedeutung. Paralleluntersuchungen von einem zumindest 5%igem Ausmaß sind die Vorgaben der internationalen Regelungen. Weiters sind Schulungsmaßnahmen sowie Audits, vor allem bei technischen Einrichtungen die Hauptelemente der Überwachung.

Die Mitbeteiligung der Saatgutunternehmen in die amtlichen Verfahren der Saatgutertifizierung ist unseres Erachtens eine Möglichkeit das Gesamtsystem effizienter und effektiver zu gestalten ohne, wie schon einmal angeführt, eine Verschlechterung der Qualität in Kauf nehmen zu müssen. Synergieeffekte zwischen Saatgutunternehmen und Behörde können besser ausgenutzt werden. Aufgrund von noch rascheren Ergebnisse

konnte die Wettbewerbsfähigkeit der Österreichischen Saatgutwirtschaft gestärkt werden. Auch das BAES erzielte Vorteile durch eine Reduzierung des Personal- und Sachaufwandes im operativen Routinegeschäft. Es sind jedoch seitens der Behörde auch ganz offen Nachteile anzuführen, die vor allem bedingt durch eine Verminderung der kritischen Masse mit Problemen der Kompetenzaufrechterhaltung bzw. mit einer trotzdem entsprechenden notwendigen Vorhaltekapazität für Untersuchungstätigkeiten bei unvorhergesehenen Ausfällen in den autorisierten Betrieben zusammenhängen. Schließlich sind unter diesem Titel auch Einnahmefälle zu verbuchen. Als mittelfristiger Ausblick wird eine weitere Ausdehnung der Autorisierung in den Bereichen Feldbesichtigung und Laborprüfungen von den Saatgutfirmen angestrebt. Die Probenahmeautorisierung ergänzt das Gesamtsystem. Mit einer vorsichtigen Annahme kann aus ökonomischen Gesichtspunkten auch eine gewisse Internationalisierung der Saatgutenerkennung angeführt werden. Weitere Entwicklungen im Sinne der „better regulation“ auf europäischer Ebene werden die Diskussionen in den nächsten Jahren zeigen.

# Integration von spezifischen, validierten/evaluierten Gesundheitsmethoden in das Saatgutenerkennungsverfahren als Selektionskriterium von hochwertigem Saatgut

M. WEINHAPPEL

## Einleitung

Die Ermittlung des Befalls mit samenbürtigen Krankheitserregern ist ein wesentlicher Bestandteil der Saatgutuntersuchung. In den Vorschriften zur Saatgutprüfung der Internationalen Vereinigung für Saatgutprüfung (ISTA) wird einleitend der Gegenstand bzw. die Bedeutung der Gesundheitsprüfung skizziert (ANONYMUS 1):

- Die epidemiologische Krankheitsausbreitung bei samenbürtigen Krankheitserregern soll unterbinden und somit Ernteverlusten vorbeugt werden
- Vermeidung der Verschleppung von Krankheitserregern in neue Regionen durch kontaminiertes Saatgut
- Aufklärung von Ursachen für mangelhafte Keimfähigkeiten und Feldaufgänge
- Aufzeigen der Notwendigkeit von Saatgutbehandlungen

Die Gesundheitsprüfung bei Saatgut hat in Österreich als Bestandteil der Saatgutenerkennung eine mehr als 50-jährige Tradition. Sie ist als sinnvolle und notwendige Ergänzung zur Krankheitserhebung bei der Felderkennung zu sehen und lässt an der saarfertigen Ware das tatsächliche Infektionsausmaß feststellen. Basis dafür sind geeignete Untersuchungsmethoden, die insbesondere auch den Ansprüchen an Qualitätssicherung und Validierung entsprechen.

## Problemstellung

Aufgrund der landwirtschaftlichen Rahmenbedingungen ist die Prüfung auf saatgutrelevante Krankheitserreger relevanter denn je. Insbesondere der in Österreich bedeutende Anteil von Zertifiziertem Saatgut der für unbehandelte Aussaat vorgesehen ist, macht eine spezifische Untersuchung auf saatgutrelevante Krankheitserreger notwendig, um

hohen Gebrauchswert des Saatgutes zu gewährleisten. Dies beschränkt sich nicht nur auf Saatgut für den biologischen Landbau, auch konventionelles Saatgut wird, in Abhängigkeit der Kulturart, in nicht unbedeutendem Maß ungebeizt eingesetzt (Abbildung 1).

Weiters macht der fortschreitende Krankheitsaufbau bei einigen obligat samenbürtigen Krankheitserregern einen dichten Prüfansatz notwendig. Befall mit Flugbrand (*Ustilago nuda*) bei Sommergerste ist im Rahmen des Saatgutenerkennungsverfahrens momentan häufig zu verzeichnen (Abbildung 2). Dies begründet sich allerdings nicht im mangelnden Qualitätsniveau der Saatgutproduktion in Österreich, sondern resultiert aus einer generell hohen, regional unterschiedlichen Durchseuchung mit diesem Erreger. Die Flugbrandergebnisse aus der Saatgutenerkennung der letzten 30 Jahre zeigen deutliche Befallsschwankungen, besonders Mitte der 80iger Jahre war ein

massiver Ausbruch bei Wintergerste feststellbar. Durch ein dichtes Prüfprogramm im Rahmen der Saatgutenerkennung im Labor, als auch durch konsequente, nachhaltige Saatgutbehandlung auf Basis wirksamer Schwellenwerte konnte das Befallsniveau wieder weitreichend reduziert werden (GIRSCH, 1988). Eine ähnliche Tendenz ist in den letzten Jahren bei Steinbrand bei Weizen (*Tilletia caries/foetida* und *Tilletia controversa*) feststellbar (Abbildung 3). Zu berücksichtigen in der Tendenz der Steinbrandbefallsentwicklung ist allerdings, dass in den letzten Jahren, speziell in der Vegetationsperiode 2005/06 in einigen Lagen beträchtlich vornehmend bodenbürtiger Zwergsteinbrand aufgetreten ist.

Durch die angestiegene Verwendung von Nachbauseaatgut, welches fast ausschließlich als Multiplikator für die Krankheitsverbreitung anzusehen ist, sind in den letzten 10-15 Jahren (WEINHAPPEL, 2006) Saatgutgesundheitsprüfungen im

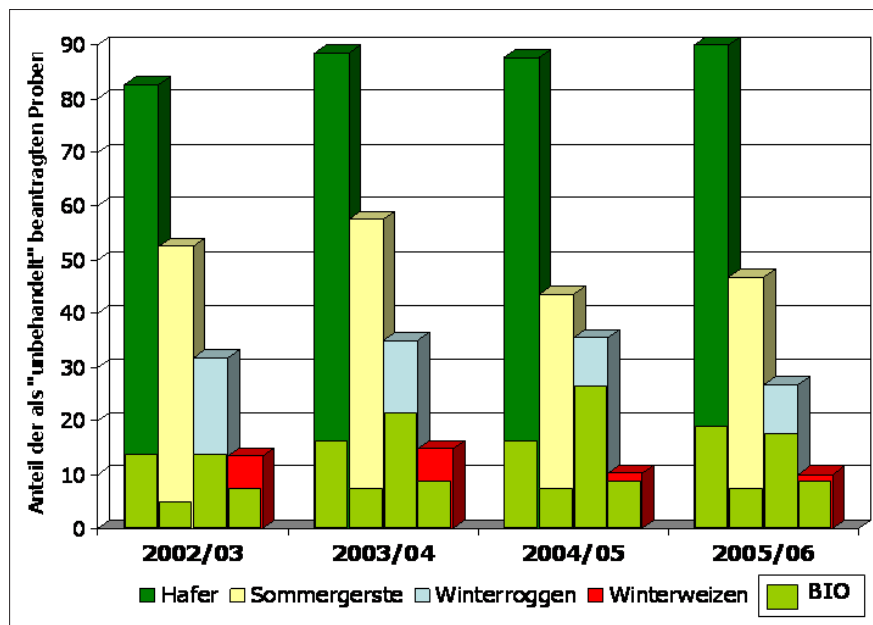


Abbildung 1: Anteil der für unbehandelte Inverkehrbringung beantragten Saatgutpartien im Anerkennungsverfahren

**Autor:** Dipl.-HLFL-Ing. Manfred WEINHAPPEL, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Saatgut, Spargelfeldstraße 191, A-1226 WIEN, manfred.weinhappel@ages.at

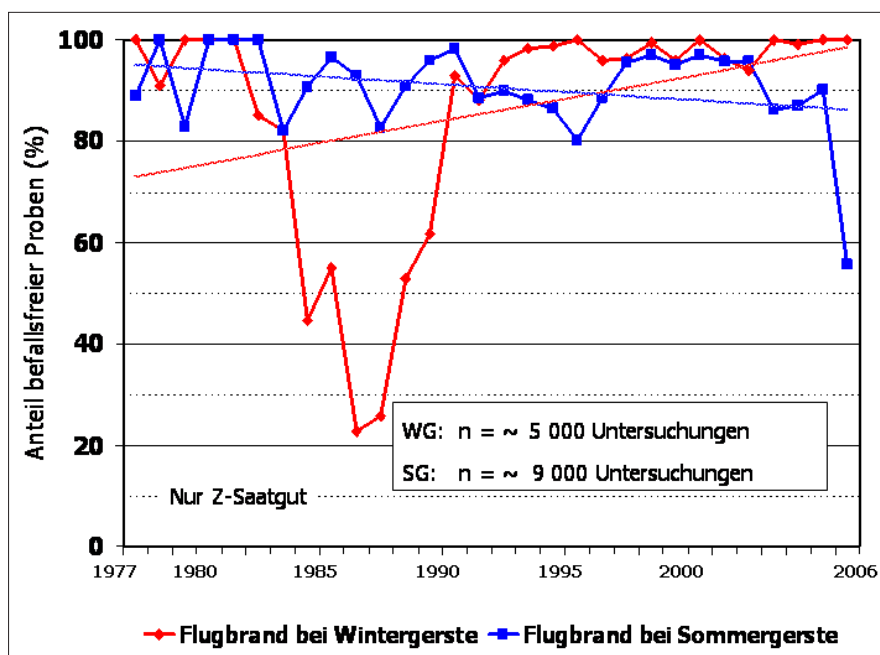


Abbildung 2: Anteil der flugbrandfreien Proben in Rahmen des Saatgutenerkennungsverfahrens bei Winter- und Sommergerste

Qualitätssystem „Saatgutenerkennung“ noch bedeutsamer geworden.

Darüber hinaus ist die Akzeptanz des Qualitätskriteriums „Gesundheitszustand des Saatgutes“ bei den Landwirten in Österreich entsprechend hoch (RATZENBÖCK et al. 1996). Einwandfreier Gesundheitszustand genießt in der Meinung der Landwirte auch höheres Ansehen als die Saatgutbeizung.

## Methoden

In den Vorschriften zur Saatgutprüfung der ISTA (ISTA-Rules) sind im Kapitel

7 spezifische Methoden für die Prüfung auf Saatgutpathogene publiziert. Diese haben das Prozedere des „Method Validation Programms“ durchlaufen (ANONYMUS 2), welches für die Validierung von Gesundheitsmethoden verwendet wird. Aktuell sind im Kapitel 7 der ISTA-Rules 21 Methoden zur Gesundheitsprüfung gelistet (drei weitere wurden bereits beschlossen und werden voraussichtlich ab 01.01.2008 Gültigkeit erlangen), darunter eine namhafte Zahl an Methoden für Pathogene, die in Österreich sehr bedeutsam sind (z.B. Flugbrand (*Ustilago nuda*), Brennfleckenkrankheit (*Ascochyta pisi*) oder voraussichtlich ab 01.01.2008 Schneeschimmel (*Microdochium nivale*)). Für 12 in den ISTA-Rules festgelegte Methoden liegt eine Akkreditierung gemäß ISTA und der nationalen Akkreditierungsstelle vor.

Darüber hinaus sind national auch Methoden akkreditiert, die im Handbook for Seed Health Testing - Section 2 publiziert sind (ANONYMUS 3) und zur Abdeckung des in Österreich relevanten Pathogenspektrums bedeutend sind. Auch diese Methoden haben einen umfangreichen Evaluierungsprozess durchlaufen.

Ergänzt wird dieser Methodenpool durch einige „In-House-Methoden“, die ebenfalls im nationalen Akkreditierungsumfang enthalten sind.

In Summe sind in den Methoden für Saatgut und Sorten gemäß §5 Saatgutgesetz 1997 aktuell 28 Methoden zur Saatgutgesundheitsprüfung publiziert (ANONYMUS 4).

## Rechtliche Situation im Zusammenhang mit dem Gesundheitszustand von Saatgut

In den diversen EG-Vermarktungsrichtlinien zu Saatgut, beispielsweise für Getreide (ANONYMUS 5) ist häufig nur ausgeführt, dass „das Vorhandensein von Schaderregern, die den Saatgutwert beeinträchtigen auf ein Mindestmaß beschränkt ist“.

Dies zeigt einerseits, dass die Regelung des Gesundheitszustandes wenig auf die Anwendung von unbehandeltem Saatgut abgestimmt ist und dass andererseits pathogenspezifische Harmonisierung weder regional noch im Hinblick auf Infektionsniveaus einfach zu bewerkstelligen ist.

Den spezifischen Anforderungen an den Gesundheitszustand von Saatgut wurde daher im nationalen Saatgutrecht Rechnung getragen. Für die relevanten samenbürtigen und samenübertragbaren Pathogene wurden Norm- und Grenzwerte etabliert, denen Anerkanntes Saatgut genügen muss. Zudem sieht die Saatgutenerkennung einen angepassten Prüfplan für geplant unbehandeltes Saatgut vor.

Die Implementierung von geeigneten Labormethoden zur Gesundheitsprüfung

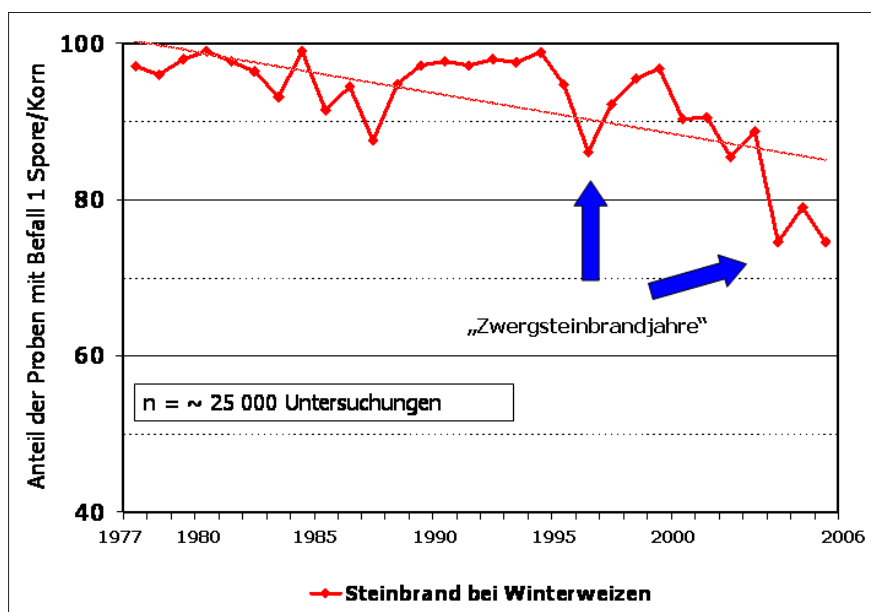


Abbildung 3: Anteil der sehr gering mit Steinbrand befallenen Proben in Rahmen des Saatgutenerkennungsverfahrens bei Winterweizen

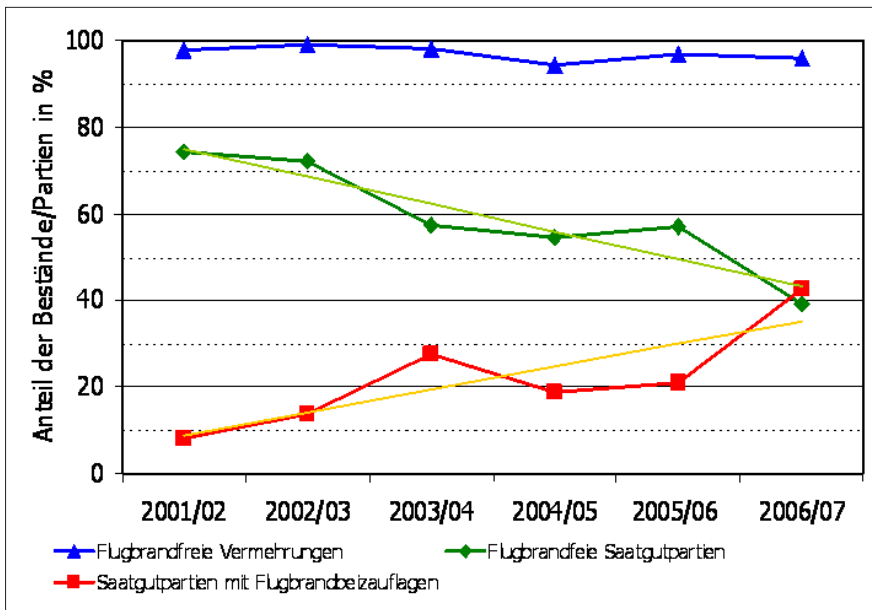


Abbildung 4: Gegenüberstellung der Ergebnisse aus der Feldanerkennung und der Saatgutbeschaffenheitsprüfung bei Sommergerste

in Verbindung mit einem rechtlich verbindlichen Norm- und Grenzwertesystem erlaubt es, bei Überschreitung von Grenzwerten im Rahmen der Feldanerkennung das Annerkennungsverfahren fortzusetzen. Mittels der Gesundheitsprüfung im Labor kann letztendlich an der saarfertigen Ware überprüft werden, ob die Infektion auf die nächste Generation stattgefunden hat. Mit samenbürtigen Krankheitserregern infiziertes Saatgut ist aber oftmals nicht aus infizierten Vermehrungsbeständen erwachsen. Häufig führen infizierte umliegende Konsumbestände zu einer Beeinträchtigung der Saatgutvermehrung. Unter den österreichischen Rahmenbedingungen konnte dies gehäuft

in den letzten Jahren bei einer Reihe von klassisch samenbürtigen Erregern festgestellt werden. Die in Abbildung 4 dargestellte Befallssituation bei Flugbrand bei Sommergerste zeigt deutlich, dass der Anteil der flugbrandfreien Vermehrungsbestände gleich bleibend auf hohem Niveau liegt. Zudem wird ein hoher Teil des Vermehrungssaatgutes bei Gerste einer Beizung mit flugbrandwirksamen Präparaten unterzogen. Trotzdem geht der Anteil an flugbrandfreien Saatgutpartien in den letzten Jahren ständig zurück. Es erweist sich immer wieder als Problem, dass durch flugbrandinfizierte Konsumbestände, die aus minderwertigem Nachbasaatgut resultieren oder unsachgemäß gebeizt wurden die biolo-

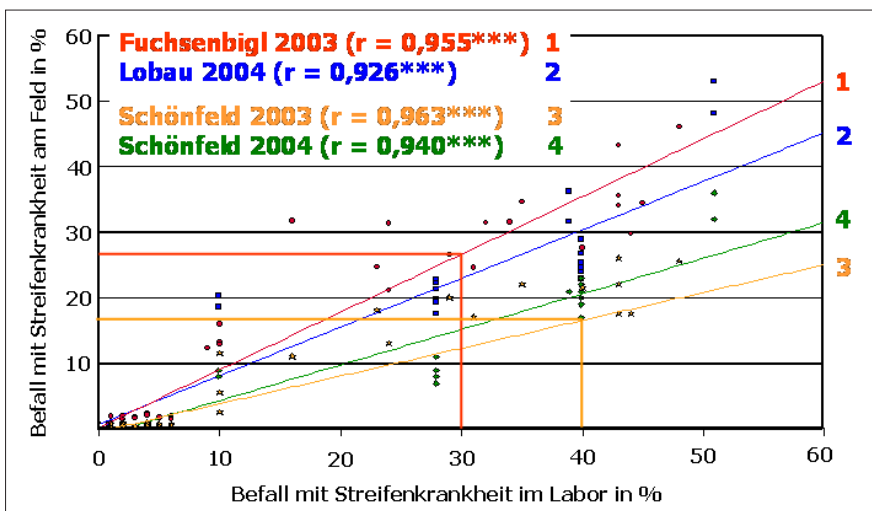


Abbildung 5: Zusammenhang zwischen Befall des Saatgutes und Befall des Feldbestandes mit Streifenkrankheit der Gerste (*Drechslera graminea*)

gische Hochwertigkeit der Saatgutproduktionen nicht ausreichend gesichert werden kann.

Die Feldanerkennung ist als Bewertungskriterium für den Befall mit vielen samenbürtigen Krankheitserregern daher nicht ausreichend. Eine effiziente Laborprüfung ist unter solch beschriebenen Rahmenbedingungen unumgänglich.

## Ergebnisse

### Evaluierung der Norm- und Grenzwerte als Beitrag zur Sicherung der Saatgutqualität

In den Methoden für Saatgut und Sorten gemäß §5 Saatgutgesetz 1997 sind aktuell 32 Pathogene mit Norm- und/oder Grenzwerten geregelt. Effiziente Norm- und Grenzwerte stellen ein wesentliches Selektionskriterium und einen nachweisbaren Beitrag zur Erhöhung und Sicherstellung der Saatgutqualität dar. Darüber hinaus sollen sie auf regionale Befallszenarien abgestimmt sein und die Bedeutung für die Landwirtschaft widerspiegeln. Eine Vielzahl der im österreichischen Saatgutrecht etablierten Schwellenwerte und die für die Untersuchung des jeweiligen Pathogens zugrunde liegende Methode wurde im Rahmen von Feldversuchen und Projekten auf ihre Verlässlichkeit zur Vorhersage für den praktischen Anbauwert evaluiert. Wie am Beispiel der Streifenkrankheit der Gerste (*Drechslera graminea*) ersichtlich (Abbildung 5), korreliert der am Saatgut mit der Methode gemäß ISTA Working Sheets ermittelte Befallswert und der Befall des Feldbestandes in hohem Maß. Umso günstiger die Infektionsbedingungen für die Krankheit werden, desto näher wird das Verhältnis Saatgutbefall zu Feldbefall. Die eingesetzte Methode erweist sich daher als sehr effizient im Hinblick auf ihren Vorhersagewert für den praktischen Anbau. Derartige Versuchsserien wurden für eine Reihe weiterer geregelter Pathogene und der dazu eingesetzten Laboruntersuchungsmethoden durchgeführt.

Vor allem für die Wirtschaftsbeteiligten ist aber nicht nur der Selektionswert im Hinblick auf die Qualität sondern auch die wirtschaftliche Erfolgsquote relevant. Norm- und Grenzwerte müssen auch unter den regionalen Gegebenheiten und Möglichkeiten in wirtschaftlichem

Maß erfüllbar sein. Eine Analyse der Ergebnisse von Bio-Saatgut bei Winterweizen - vor allem im Hinblick auf die Sicherstellung eines einwandfreien Saatgutgesundheitszustandes ein durchaus herausfordernder Bereich der Saatgutproduktion - zeigt, dass die Anerkennungsraten in den letzten drei Anerkennungsaisons zwischen 73 und 78% gelegen sind. Die zertifizierten Saatgutmengen waren ausreichend, um die Versorgung des Inlandsmarktes in diesem Saatgutsegment sicherzustellen.

### Schlussfolgerungen - Fazit

Die Gesundheitsprüfung bei Saatgut und deren Integration in das amtliche Saatgutankennungsverfahren ist, insbesondere unter den österreichischen Rahmenbedingungen, ein wesentlicher Beitrag zur Sicherung der Saatgutqualität.

Die aktuell dafür zur Verfügung stehenden, validierten Methoden aus den ISTA-Rules und den ISTA Working Sheets decken durchaus umfassend, ergänzt durch einige national akkreditierte

Methoden, das in Österreich relevante Pathogenspektrum ab.

Durch die Etablierung der Saatgutgesundheitsprüfung können auch Infektionspotentiale außerhalb des Qualitätssystems „Saatgutankennung“ effizient und umfassend identifiziert werden.

Die Ergebnisse der Gesundheitsprüfung und deren Bewertung in einem Schadschwellensystem geben gezielt Auskunft über die Notwendigkeit und Art von durchzuführenden Saatgutbehandlungen.

Die Gesundheitsprüfung trägt auch wesentlich zur Akzeptanz von Z-Saatgut als hochwertiges Produkt bei den Landwirten bei.

### Literatur

ANONYMUS 1: International Rules for Seed Testing, Edition 2007. International Seed Testing Association (ISTA).

ANONYMUS 2: Handbook of Method Validation for the Detection of Seed-Borne Pathogens (2000). International Seed Testing Association (ISTA).

ANONYMUS 3: Handbook on Seed Health Testing, Section 2: Working Sheets, 2<sup>nd</sup> edition. International Seed Testing Association (ISTA).

ANONYMUS 4: Anforderungen an die Beschaffenheit und Methoden zur Bestimmung der Beschaffenheit von Saatgut. Methoden für Saatgut und Sorten gem. §5 Saatgutgesetz 1997 idgF, Sorten- und Saatgutblatt 2007, 15. Jahrgang, Sondernummer 31.

ANONYMUS 5: EG-Richtlinie 66/402/EWG des Rates über den Verkehr von Getreidesaatgut.

GIRSCH, L., 1988: Der Flugbrand bei Gerste - Untersuchungen zur Epidemiologie. Bericht zur Arbeitstagung 1988 der „Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtler“ innerhalb der Vereinigung österreichischer Pflanzzüchter, 22-24.11.1988 in Gumpenstein, 183-200.

RATZENBÖCK, A., L. GIRSCH, M. WEINHAPPEL und H. SCHWARZ, 1996: Untersuchungen des Saatgutwertes von wirtschaftseigenem Saatgut bei ausgewählten Getreidearten und Körnererbse und Ergebnisse einer Umfrage zu Fragen des Saatgutwechsels. Bericht über die 47. Arbeitstagung 1996 der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtler im Rahmen der Vereinigung österreichischer Pflanzzüchter, Gumpenstein, 27-43.

WEINHAPPEL, M., 2006: Getreidekrankheiten wie Stein- und Flugbrand weiter im Vormarsch. Bericht zur Wintertagung 2006 des ökosozialen Forums Österreichs.

# Das Keyence Mikroskop und sein digitaler Einsatz zum Aufbau einer Samensammlung

C. MÜLLER, A. JONITZ und N. LEIST

## Einführung

Die Bedeutung einer Samensammlung liegt darin, einen direkten Vergleich von unbekanntem Samen mit gesichertem Referenzmaterial zu ermöglichen, was für eine sichere Bestimmung von fremden Samen in Saatgutproben erforderlich ist. Hierbei sind traditionell Samensammlungen und Herbare in der Verwendung.

Gegenwärtig besteht das Problem, dass Samensammlungen nicht käuflich zu erwerben oder fallweise sehr teuer sind.

Im Zuge des technischen Fortschritts ist es möglich, durch digitale Fototechniken und Verrechnungsprozeduren dreidimensionale Darstellungen von Samen aller Größenordnungen zu erstellen, die ein plastisches Bild der Samenform und Struktur geben, welches eine Bestimmung anhand der morphologischen Samenmerkmale ermöglicht. So können künftig Sammlungen digitaler Samenfotos eine Erweiterung von Samensammlungen darstellen.

Die Vorteile einer digitalen Sammlung sind vor allem darin zu sehen, dass die zur Bestimmung erforderlichen Merkmale im Detail und ohne weitere Nutzung von Geräten wie Binokularen,

erkennbar sind. Der rasche Zugriff in einer Datenbank ist ebenso ein Vorteil, wie die Sicherheit vor Verwechslung bei der Nutzung.

Darüber hinaus ist eine Fotosammlung im Vergleich zu einer Samensammlung farbbeständig, pflegeleicht und es gibt keinen Verderb und Insektenfraß. Die Fotokollektion ist jederzeit erweiterbar.

## Anwendungsbereiche des Keyence Mikroskops

Der Gerätenamen Keyence steht für Key of Science. Diese Technik wurde 1974 in Osaka, Japan für die Anwendung in der Industriesensorik und Automatisierungstechnik entwickelt. Die stete Optimierung führte zum Einsatz in der Digitalmikroskopie in vielen Bereichen der Materialprüfung. So zum Beispiel bei der Automobil-, Textil-, Verpackungs-, Arzneimittel- und chemischen Industrie. Dabei überzeugt das Keyence System durch die Erstellung tiefscharfer Bilder von Oberflächenstrukturen, die direkt digital erfasst und verarbeitet werden. So können im Vergleich zur herkömmlichen Mikrofotografie sehr einfach dreidimensionale Abbildungen von Oberflächenstrukturen erstellt werden.

Die Geräteausstattung umfasst ein schwenkbares Stativ, ein Telezoom-Objektiv und einen Computer mit hochauflösendem Bildschirm und Bildbearbeitungssoftware ebenso wie Software zur Erstellung von dreidimensionalen Bildern. Zusätzlich kommen Kaltlichtquellen zum Einsatz (*Abbildung 1*).

Die Handhabung des Gerätes ist einfach und bietet Vergrößerungseinstellungen von 20- bis 200- oder 500- bis 5000fach in einem Handgriff.

Eine Samenbestimmung erfolgt zumeist anhand von morphologischen Merkmalen, wie Form, Größe, Farbe und insbesondere von charakteristischen Oberflächenstrukturen, welche oftmals sogar eine einzelne Art ausweisen. Somit liegen bei dieser biologischen Anwendung vergleichbare Anforderungen wie in der technischen Applikation vor, was das Projekt „digitale Samensammlung“ mit dem Keyence Mikroskop am Landwirtschaftlichen Technologiezentrum Augustenberg begründete. Hierbei sollen die in der „Augustenberg-Seed Collection“ befindlichen 2900 Arten digitalisiert werden.

## Voreinstellungen

Für ein erfolgreiches Arbeiten mit dem Keyence Mikroskop ist die Optimierung der Voreinstellungen erforderlich, die das Objekt in optimaler Beleuchtung so darstellen, dass charakteristische Bestimmungsmerkmale des Samens bestmöglich dargestellt werden.

Dazu ist eine gute Ausleuchtung des Objektes, bei der Licht und Schatten zur plastischen Gestaltung des Bildes beitragen, erforderlich.

Zur Vermeidung von Glanzpunkten auf der Oberfläche sehr glatter und hochglänzender Samen wie Bohnen oder Hirse (*Abbildung 2*) bedarf es der Reduktion der direkten Beleuchtung und des Bestrahlers mit zusätzlichen externen



Abbildung 1: Das Keyence Mikroskop System

**Autoren:** Christina MÜLLER, Andrea JONITZ, Norbert LEIST, Referat Saatgutuntersuchung und Angewandte Botanik, LTZ Augustenberg, Neßlerstraße 23, D-76227 KARLSRUHE



Abbildung 2: Haarästige Rispenhirse (*Panicum capillare*)

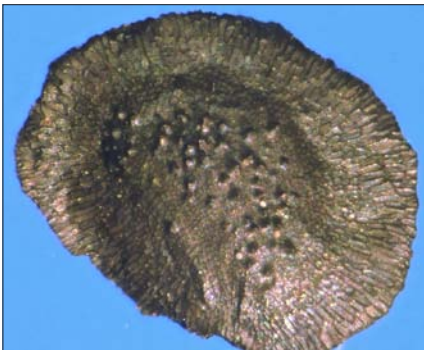
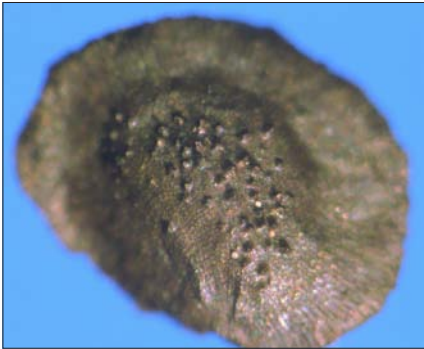


Abbildung 3: Leinkraut, *Linaria vulgaris*, oben Aufnahmemodus Normal, unten Tiefenzusammensetzung von 11 Bildern

Lichtquellen die das Objekt in flachem Winkel beleuchten. Die Erfahrung zeigt, dass sich ein blauer Hintergrund für Samenaufnahmen besonders gut eignet.

Bei optimaler Beleuchtung wird die Tiefenschärfe bei 200facher Vergrößerung im oberen Abbildungsbereich eingestellt. Das Programm stellt verschiedene Aufnahme Modi zur Verfügung, die sich für die vielgestaltigen Samenstrukturen unterschiedlich eignen.

Für die Aufnahme von mehreren Samen hat sich der 3 CCD Modus als gut geeignet erwiesen, für die Aufnahme von Einzelsamen die Fine Depth Composition.

Die Aufnahmen werden sodann gemeinsam mit den Aufnahmeeinstellungen abgespeichert. Eine praktische Programmfunktion ist es, bis zu vier Bilder an dem systemzugehörigen Bildschirm gleichzeitig in hoher Bildauflösung betrachten zu können, was die Auswahl des Aufnahmemodus bei oft nur geringen Qualitätsdifferenzen enorm erleichtert.

### Bildaufnahmefunktionen

Als Beispiel ist hier ein Same des Orientalischen Zackenschötchens (*Bunias orientalis*) im Normalmodus mit einer Auflösung von 1.600 x 1.200 Pixel und im 3 CCD Modus in der selben Auflösung jedoch unter Verwendung der Pixelverschiebefunktion aufgenommen, was eine Qualitätsverbesserung des Bildes erkennen lässt.

Der Real-time Depth Composition-Modus ermöglicht durch die Zusammensetzung und Verrechnung von mehreren Bildern (Echtzeit-Tiefenzusammensetzung) eine dreidimensionale Darstellung, die insbesondere komplexe Oberflächenstrukturen die nicht in einer Schärfenebene liegen, gut heraus stellen.



Spitzwegerich (*Plantago lanceolata*)



Dornige Spitzklette (*Xanthium spinosum*)

So zeigt das Beispiel *Linaria* ein im Normalmodus aufgenommenes Bild im Vergleich zum Real-time Depth Composition Modus, bei dem 11 Bilder unterschiedlicher Schärfenebenen miteinander verrechnet wurden, wodurch ein enormer Qualitätsgewinn erzielt werden konnte, sodass die gesamte Samenoberfläche scharf erkennbar wird (Abbildung 3).

### Beispiele

Abschließend seien noch einige Aufnahmen im 3 CCD Modus:

Spitzwegerich (*Plantago lanceolata*), Zuckerrübe (*Beta vulgaris*), Dornige Spitzklette (*Xanthium spinosum*), Arznei Engelwurz (*Angelica archangelica*) sowie im Fine Depth Composition Modus: Acker-Lichtnelke (*Silene noctiflora*), Petersilie (*Petroselinum crispum*), Acker Krummhals (*Anchusa arvensis*) und Faden-Fingerhirse (*Digitaria ischaemum*) gezeigt.

Derzeitiger Stand der Arbeiten: 155 Arten der ISTA Universal List of Species liegen digitalisiert vor und sollen elektronisch publiziert werden.



Zuckerrübe (*Beta vulgaris*)



Arznei Engelwurz (*Angelica archangelica*)





Acker-Lichtnelke (*Silene noctiflora*)



Petersilie (*Petroselinum crispum*)



Acker Krummhals (*Anchusa arvensis*)



Faden-Fingerhirse (*Digitaria ischaemum*)

# Entwicklung von immunochemischen und PCR-Methoden zum qualitativen Nachweis von *Tilletia* Arten in Saatgut

T. KELLERER, M. SEDLMEIER, F. RABENSTEIN und B. KILLERMANN

## Abstract

Molekulare und immunologische Methoden für den sicheren und zuverlässigen Nachweis sowie die Unterscheidung von Brandpilzen wurden entwickelt. Mit den bisher erreichten Ergebnissen können die drei *Tilletia* Arten Steinbrand (*T. caries*), Zwergsteinbrand (*T. controversa*) und Indischer Steinbrand (*T. indica*) nicht nur nachgewiesen, sondern auch innerhalb von 3h mittels PCR sicher voneinander unterschieden werden. Die entwickelten spezifischen Primerpaare für die drei *Tilletia* Arten weisen keine Wechselwirkung mit den anderen *Tilletia* Arten sowie mit samenbürtigen Pilzen wie *Fusarium* oder der Wirtspflanze selbst auf. Beim immunochemischen Nachweis mittels Western Blot und polyklonalen Antisera gegen *T. caries* bzw. *T. controversa* werden innerhalb von 5h ebenfalls sehr gute Ergebnisse erzielt. Im Western Blot konnte jeweils eine spezifische Reaktion in Form einer einzelnen Bande beobachtet werden, unter Verwendung eines polyklonalen Antikörperserums gegen Gesamtproteinextrakt aus *T. caries* bzw. *T. controversa* Sporen. Zusätzlich traten keine wesentlichen Wechselwirkungen in Kreuzreaktionstests im Bereich der spezifischen Bande auf. Methoden für den spezifischen Nachweis von *T. indica* mittels polyklonaler Antisera durch Western Blot und zum Nachweis aller 3 *Tilletia* Arten mittels monoklonaler Antikörper im ELISA sind derzeit in der Entwicklung. Parallel dazu werden die PCR Primer zur Unterscheidung der drei *Tilletia* Arten optimiert und validiert.

## Key words

Samenbürtige Pilze, *Tilletia caries*, *Tilletia controversa*, *Tilletia indica*, Western Blot, PCR, polyklonale Antikörper, Brandpilze

## Einleitung

Weizen ist eines der wichtigsten Grundnahrungsmittel. Die Produktion wird oft durch Pilzkrankheiten wie z.B. Roste und Brände beeinträchtigt. Ertragseinbußen sowie eine deutlich schlechtere Produktqualität bis hin zur Nichtverwendbarkeit, insbesondere im Öko-Landbau sind die Folge. Unter den Brandkrankheiten sind der Weizensteinbrand und der Zwergsteinbrand die gefährlichsten. Der Quarantäneschädling Indischer Steinbrand ist in Europa bisher noch nicht aufgetreten, stellt aber eine latente Bedrohung dar.

Für die Anwendung von Quarantänebestimmungen sind hocheffiziente Nachweismethoden eine Grundvoraussetzung, um schnelle und sichere Entscheidungen über Ex- und Import treffen zu können.

In diesem Forschungsprojekt wurden zwei Methoden entwickelt, die wichtigsten und gefährlichsten *Tilletia* Arten - Steinbrand (*T. caries*), Zwergsteinbrand (*T. controversa*) und den Quarantäneschädling Indischer Steinbrand (*T. indica*) - nicht nur nachzuweisen, sondern auch sicher und zuverlässig voneinander zu unterscheiden.

Für die Detektion einzigartiger Sequenzen im Genom bzw. Proteom dieser Pathogene wurden spezifische Primer für die PCR bzw. entsprechende polyklonale Antikörper für Western Blot Methoden entwickelt. Hierfür wurde das HSP60 Gen verwendet, welches diese einzigartigen Bereiche bietet. Das HSP60 Gen codiert für ein Hitzeschock Protein (Chaperon) zudem kommt es ubiquitär in allen hier verwendeten Pilzen vor. Zusätzlich bietet dieses Gen eine ausreichend hohe Variabilität, um die einzelnen *Tilletia* Arten voneinander zu unterscheiden.

## Material und Methoden

### Herkünfte von *Tilletia*-infizierten Ähren, Körner, reines Sporenmateriale oder Brandbutten:

- Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Freising (*T. controversa*)
- Federal Biological Research Centre, Darmstadt (*T. caries*)
- Landwirtschaftskammer Nordrhein-Westfalen (*T. caries*)
- Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft (*T. caries*)
- Landesanstalt für Landwirtschaft, Forsten und Gartenbau, Sachsen-Anhalt (*T. caries*)
- Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft; Pflanzenschutzdienst Hessen (*T. caries*)
- GEVES, Station Nationale d'Essais des Semences (SNES). Cedex, Frankreich (*T. caries*)
- USDA-ARS, National Small Grains Germplasm Research Facility. Aberdeen, USA (*T. caries*, *T. controversa*)
- Landwirtschaftliches Technologiezentrum Augustenberg (*T. caries*, *T. controversa*)
- Department of Plant Breeding, Genetics & Biotechnology; Punjab Agricultural University Punjab, Indien (*T. indica*)

Die Sporen wurden mit mehreren Sieben bei reduzierenden Durchmessern gereinigt (Großansatz) oder aus Brandbutten per Hand isoliert (Kleinansatz).

Die Isolation der DNA, die PCR Bedingungen, die Protein Extraktion, die Herstellung der Antikörper und die Western Blot Bedingungen erfolgte wie in VDLUFA Schriftenreihe Bd. 62/2007, 575-579 beschrieben.

**Autoren:** Dipl.-Biol. Thomas KELLERER, Monika SEDLMEIER und Dr. Berta KILLERMANN, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Vöttinger Straße 38, D-85354 FREISING; Dr. Frank RABENSTEIN, Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, Neuer Weg 22, D-06484 QUEDLINBURG

## Ergebnisse und Diskussion

### PCR Methode

Als erster Schritt wurde die *Tilletia caries* HSP60-Sequenz bestimmt, welche als einzige der *Tilletia* Arten nicht in der ncbi Sequenzdatenbank (www.ncbi.nih.gov) veröffentlicht ist. Unter der Annahme, dass durch die große Homologie zwischen den beiden Sequenzen von *T. caries* und *T. controversa* eine PCR möglich sein könnte, wurde durch Verwendung von *Tilletia controversa* Primern und *T. caries* DNA unter wenig

stringenten Bedingungen eine PCR durchgeführt und das Produkt anschließend sequenziert. Die erhaltene Sequenz wurde mit den Datenbanksequenzen von *T. controversa* und *T. indica* verglichen und entsprechende Unterschiede herausgearbeitet. Auf diesem Weg wurden 3 Primerpaare für die Differenzierung der drei *Tilletia* Arten hergestellt, wobei in einer PCR Fragmente mit einer Länge von 155 (*T. indica*), 157 (*T. caries*) und 162 bp (*T. controversa*) entstehen. Die Unterscheidung bezieht sich auf das Vorhandensein einer spezifischen Bande

auf einem 1,5%igen Agarosegel entsprechender Länge bei richtiger Primer/Template Kombination (vgl. *Abbildung 1*, Pfeile). Eine falsche Primer/Template Kombination resultiert in keiner Bande bei ~ 160 bp oder unspezifischen PCR Produkten (vgl. *Abbildung 2 a-c*). Alle drei Primerpaare wurden erfolgreich getestet und können zur Unterscheidung der drei *Tilletia* Arten herangezogen werden.

Zur Validierung dieses neu entwickelten Testsystems wurden verschiedene *T. caries* Sporenerkennungen (deutsche

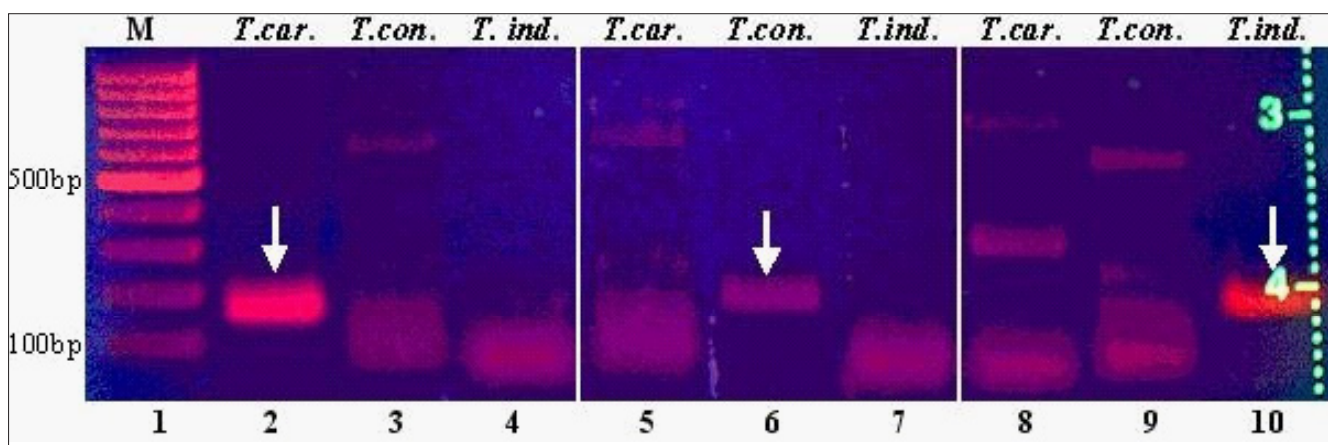


Abbildung 1: 1,5%iges Agarosegel mit PCR Ergebnissen der unterschiedlichen spezifischen Primerkombinationen. Spur 1: 100 bp Marker; Spuren 2-4: *T. caries*; Spuren 5-7: *T. controversa*; Spuren 8-10: *T. indica*.

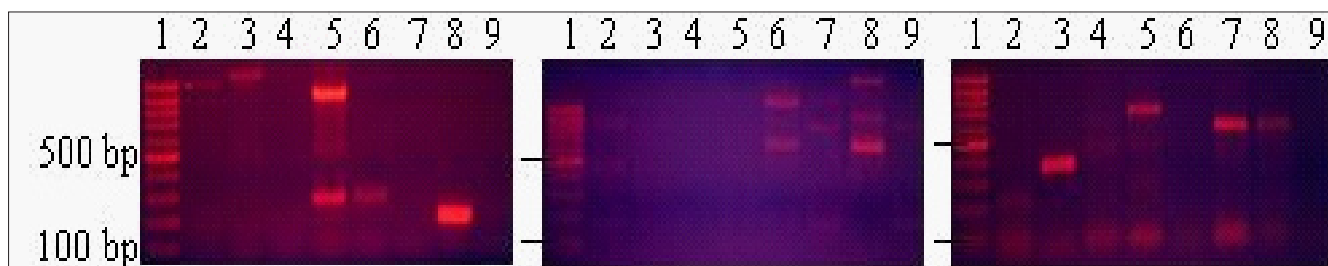


Abbildung 2: 1,5%iges Agarosegel mit den PCR Kontrollreaktionen bei anderen samenbürtigen Krankheitserregern mit Primern für a) *T. caries*; b) *T. controversa*; c) *T. indica*. Jeweils Spur 1: 100 bp Marker, Spuren 2-9: *Fusarium poae* (2), *Fusarium graminearum* (3), *Fusarium culmorum* (4), *Microdochium nivale* (5), *Aspergillus fumigatus* (6), *Penicillium gladicola* (7), *Alternaria alternata* (8), *Cladosporium ER 21* (9).

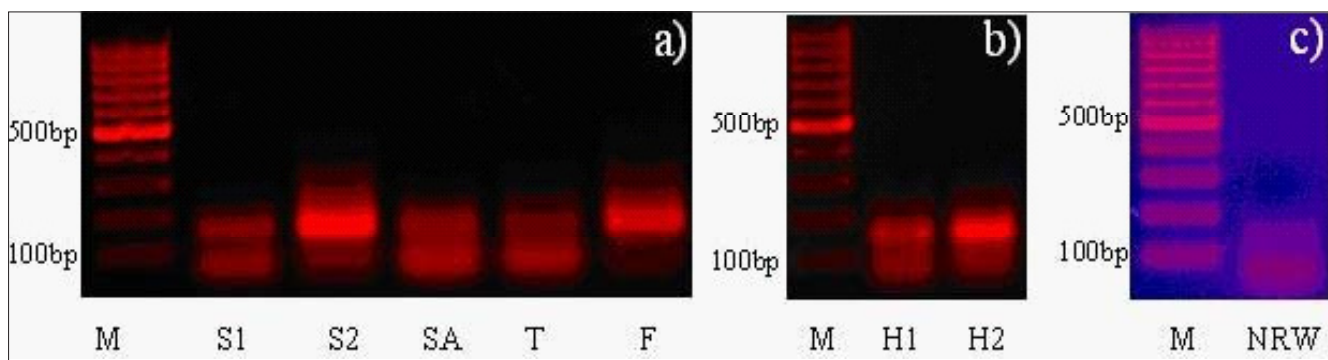


Abbildung 3 a-c: 1,5%iges Agarosegel mit *T. caries* Nachweis für Sporen aus deutschen Bundesländern und Frankreich. S1 = Sachsen (Löbau), S2 = Sachsen (Dresden), SA = Sachsen-Anhalt, T = Thüringen, F = Frankreich, H1 = Hessen Ernte '05, H2 = Hessen Ernte '07, NRW = Nordrhein-Westfalen, M = 100 bp Marker.

Bundesländer, Frankreich, Nordamerika und China) untersucht. Bei den Sporenproben aus den Bundesländern Sachsen, Sachsen-Anhalt, Hessen, Nordrhein-Westfalen, Thüringen sowie aus Frankreich erwies sich das Testsystem als sehr sicher und es konnten alle Proben zweifelsfrei als *T. caries* identifiziert werden (vgl. *Abbildung 3 a-c*). Weitere Herkünfte aus Deutschland werden derzeit getestet. Als Kontrolle diente das *T. controversa* Primerpaar, bei dem die charakteristische Bande bei ~160bp nicht erscheint (vgl. *Abbildung 4*). Die nordamerikanischen und chinesischen Herkünfte konnten bis jetzt noch nicht alle zweifelsfrei als *T. caries* bzw. *T. controversa* identifiziert werden, was in *Abbildung 5* dargestellt ist. Es konnten 20 *T. caries* Herkünfte richtig identifiziert werden (vgl. *Abbildung 5 a-c*). Unter-

schiedliche *T. controversa* Herkünfte ergaben wie erwartet negative Signale für das *T. caries* Primerpaar bei ~160 bp. Allerdings bildet die Herkunft A6 eine Ausnahme, die ein falsch positives PCR Produkt hervorgebracht hat (vgl. *Abbildung 5 c/d*; A6). Falsch positive Signale sind des öfteren aufgetreten und machen eine weitere Optimierung der Primer und/oder des Protokolls notwendig.

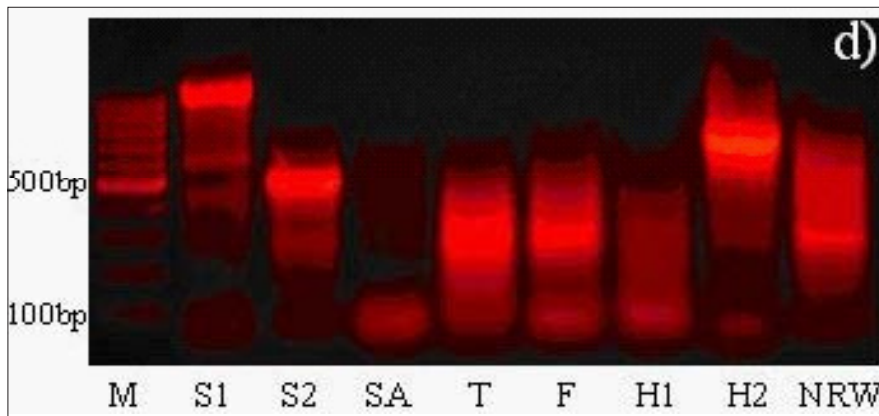
Um eine quantitative Aussage bezüglich der Sporenbelastung treffen zu können wurde eine Nachweisgrenze für diese Primerpaare bestimmt. Eingesetzt wurde eine Verdünnungsreihe von 50-1.000 Sporen, wobei die DNA Extraktion mittels einer langsamen Methode (Qiagen DNA Extraction Kit) mit hoher DNA Ausbeute (*Abbildung 6*, Spuren 1-4) und einer schnellen Methode (Mikrowelle, Tris/EDTA Puffer) mit geringer DNA Aus-

beute erfolgte (*Abbildung 6*, Spuren 5-9).

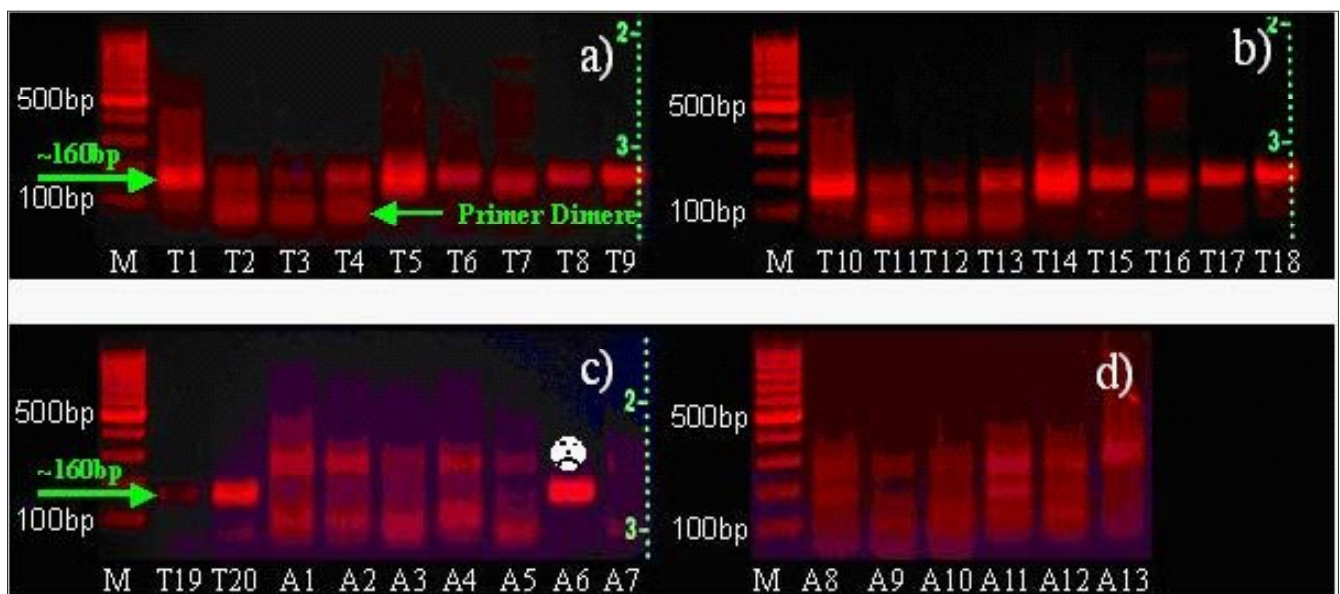
Bei der DNA Extraktion mittels Qiagen Kit liegt die Nachweisgrenze unter 50 Sporen (Spur 1, *Abbildung 6*), für die schnelle Extraktionsmethode bei unter 500 Sporen (Spur 8, *Abbildung 6*). Wird diese Sporenzahl auf die zu untersuchenden 300 Körner (ISTA Handbook on Seed Health Testing, Working Sheet No 53) bezogen, so liegt die Nachweisgrenze bei unter 1 Spore pro Korn (Qiagen) und unter 2 Sporen (schnelle Methode) und damit deutlich unterhalb der vereinbarten maximalen Sporenbelastung von 20 Sporen pro Korn, die für den Anbau von Saatgut im Ökologischen Landbau gilt.

### Western Blot Methode

Polyklonale Antikörper wurden unter Verwendung von *T. caries*- und *T. controversa*-Sporensuspension als Antigen hergestellt. Die gereinigten Antikörper konnten für Western Blot Analysen in einer Verdünnung von 1:5.000 verwendet werden. Der Nachweis erfolgte über einen an alkalische Phosphatase gekoppelten Zweitantikörper aus Ziege ( $\alpha$ -Rabbit IgG AP-conjugate) in einer 1:2.000 Verdünnung. Der *T. caries* Antikörper zeigt im Western Blot eine einzelne spezifische Bande bei ca. 43 kDa (vgl. *Abbildung 7 c*). Im Vergleich dazu zeigt der *T. controversa* Antikörper eine Vielzahl an Banden in einem „Zebrastrifenmuster“ (vgl. *Abbildung 7a*), was für die Detektion von Glycopeptiden spricht (WOODWARD et al. 1985).



*Abbildung 4*: 1,5%iges Agarosegel mit PCR Ergebnissen der *T. controversa* Primer als Negativkontrollen für die *T. caries* Herkünfte aus *Abbildung 3*. M = 100 bp Marker.



*Abbildung 5*: PCR Ergebnisse mit dem spezifischen *T. caries* Primerpaar von verschiedenen internationalen *Tilletia* Herkünften (China, Nordamerika). a-c: 20 *T. caries* Herkünften und c/d: *T. controversa* Herkünften. M = 100 bp Marker.

Hierfür wurde die Membran nach dem Blotten für 1h in Natriumperjodat Puffer inkubiert. Als Ergebnis resultiert eine

einzelne spezifische Bande bei ca. 70 kDa (Abbildung 7b, Pfeil). Auf den *T. caries* Antikörper hat diese Behandlung

keinen Einfluss (vgl. Abbildung 7 c+d). Ebenso wie für die PCR Methode wurde auch hier eine Nachweisgrenze für spätere quantitative Aussagen definiert. Eingesetzt wurde eine Verdünnungsreihe von 100 mg bis 1 ng (vgl. Abbildung 8). Der Antikörper erkennt im Western Blot noch Sporenmengen von 1 µg, was ca. 500 Sporen entspricht. Wird diese Menge wiederum auf 300 Körner bezogen, ergibt sich ein minimal nachweisbarer Befall von unter 2 Sporen pro Korn.

Mit den entwickelten Techniken stehen derzeit für den qualitativen Nachweis und die Unterscheidung der *Tilletia* Arten sichere, zuverlässige und schnelle Methoden zur Verfügung.

Hinsichtlich quantitativer Aussagen sind zwingend weitere Forschungsarbeiten notwendig. Denn erst mit der Aussage über die Befallshöhe - sprich die Anzahl Sporen pro Korn - kann eine Entscheidung darüber getroffen werden, ob die entsprechenden Saatgutpartien insbesondere im Ökologischen Landbau noch anbaufähig sind.

## Literatur

FERREIRA, A. and N. GLASS, 1996: PCR from fungal spores after microwave treatment. <http://www.fgsc.net/fgn43/ferreir.html>

ISTA Handbook of Seed Health Testing (Working sheet No 53).

KELLERER, T., M. SEDLMEIER, F. RABENSTEIN und B. KILLERMANN, B. 2007: Entwicklung von immunochemischen und PCR Methoden zum qualitativen Nachweis von *Tilletia* Arten in Ökosaatgut. VDLUFA Schriftenreihe, Bd. 62/2007, 575-579.

National Center for Biotechnology Information, [www.ncbi.nih.gov](http://www.ncbi.nih.gov)

WOODWARD, M.P., W.W. YOUNG Jr. and R.A. BLOODGOOD, 1985: Detection of monoclonal antibodies specific for carbohydrate epitopes using periodate oxidation. *J Immunol Methods*, Vol. 78, 143-153.

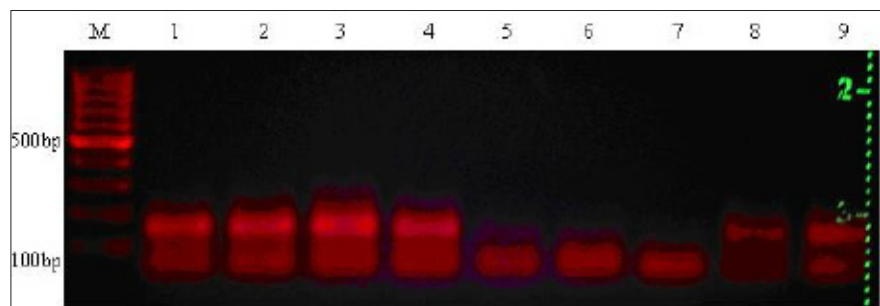


Abbildung 6: 1,5%iges Agarosegel mit den Nachweisgrenzen zweier DNA Extraktionsmethoden. Spuren 1+5: 50 Sporen; 2+6: 100 Sporen; 3+7: 200 Sporen; 4+8: 500 Sporen; 9: 1.000 Sporen. M = 100 bp Marker.

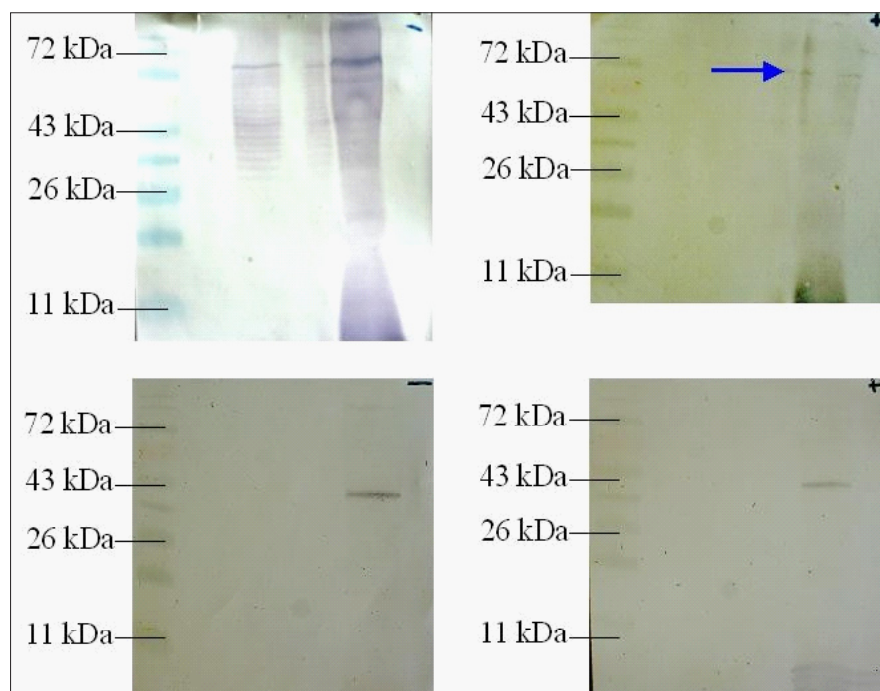


Abbildung 7 a+b: Western Blot nach SDS-PAGE des Gesamtproteinextrakts aus *T. controversa* mit einer spezifischen Bande bei ca. 70 kDa (Pfeil) vor und nach Natriumperjodat Behandlung. c+d: Western Blot nach SDS-PAGE des Gesamtproteinextrakts aus *T. caries* mit einer spezifischen Bande bei ca. 43 kDa. Eine Natriumperjodat Behandlung hatte hier keinen Einfluss.

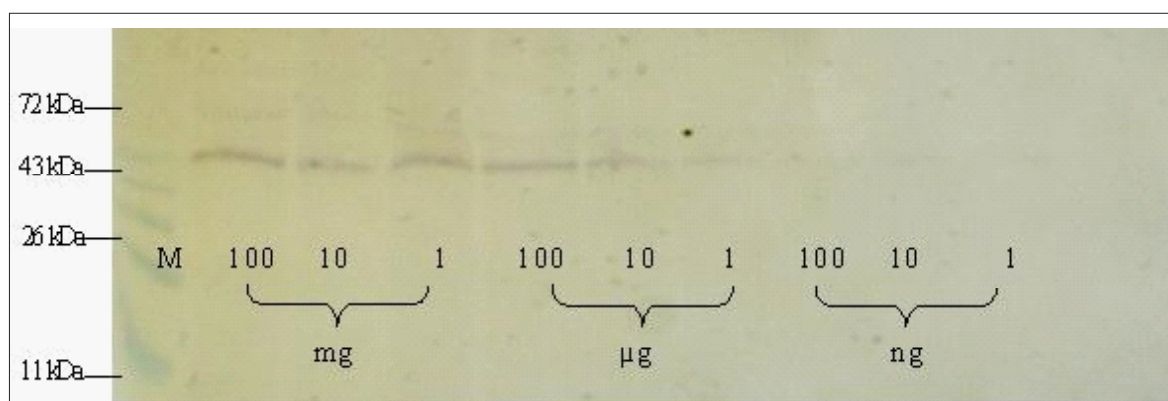


Abbildung 8: Nachweisgrenze des polyklonalen *T. caries* Antikörper bezogen auf eine Verdünnungsreihe von 100 mg bis 1 ng Sporen. M = Marker.

# Nutzung von PCR-Sonden zur Saatgutkontrolle am Beispiel von *Peronospora valerianellae* und *Peronospora swinglei* s.l.

F. BRÄNDLE, H.-J. SCHÄRER, L. PENZKOFER und M. THINES

Trotz intensiver Bemühungen auf den Gebieten der Resistenzzüchtung, Pestizidentwicklung und Optimierung des Anbaus sind die, durch Pflanzenkrankheiten verursachten, Ertragsverluste beachtlich. Häufig werden die Krankheitserreger, infolge des ständig zunehmenden internationalen Warenverkehrs verschleppt und verursachen in bisher befallsfreien Gebieten erhebliche Schäden. Ein typisches Beispiel hierfür ist die Epidemiologie von *Peronospora swinglei* s.l., der Falsche Mehltau des Basilikums. Der saatgutbürtige Erreger wurde in Europa erstmals 2001 in der Schweiz an afrikanischer Importware diagnostiziert. Seit dieser Zeit bereitet sich der Erreger immer weiter aus. Neben Deutschland (Erstauftreten 2002) und Frankreich (Erstauftreten 2003) ist vor allem Italien betroffen (Erstauftreten 2003). Eine Ausbreitung in weitere Anbauggebiete wie Nordamerika oder Asien mit entsprechenden Ertragsverlusten ist zu befürchten. Ein weiteres Beispiel ist *Peronospora valerianellae*, der Falsche Mehltau an Feldsalat, der seit den 70er Jahren in Frankreich und seit den 80er in Deutschland immer wieder für Ertragsausfälle verantwortlich ist.

## Risiko:

### Grow-out Test und Schütteltest

Im Gegensatz zu Viren, die sich mit Hilfe von Antikörper-basierten Tests gut im Saatgut nachweisen lassen, stehen zur Detektion vieler relevanter Pilze und Bakterien meist nur Grow-out Tests bzw. der Schütteltest zur Verfügung. Beispiel Grow-out beim Feldsalat: 400 Samen werden einzeln zur Keimung gebracht und in der nachfolgenden Jungpflanzenphase unter für das Pathogen optimalen Bedingungen angezogen, bonitiert wird ab dem 17. Tag. Der Test endet mit dem 28. Tag. Beispiel Schütteltest beim

Feldsalat: Es werden jeweils 100 Samen zusammen in Wasser aufgeschüttelt und das Waschwasser wird anschließend unter dem Mikroskop vollständig auf das Vorhandensein von Oosporen untersucht. Diese bisher eingesetzten Methoden zur Saatgutkontrolle sind zeitaufwendig, kostenintensiv und konnten zudem eine weitere Ausbreitung des Erregers nicht verhindern.

### Alternative: PCR

Um eine verbesserte Nachweissicherheit zu erreichen, wurde in Vergangenheit die Technik der Polymerasen-Kettenreaktion (PCR) zur Detektion von Schaderregern eingesetzt. Dieser auf der Vervielfältigung von Erbgut basierten Technologie, genügen schon wenige Moleküle des gesuchten Organismus um eine sichere Aussage erreichen zu können. Die Analyse benötigt darüber hinaus wenig Zeit (max. 3 Tage) und ist durch Automatisierung für die Beprobung größerer Saatgutmengen bestens geeignet. Probleme bereitet jedoch die genaue Differenzierung von genetisch sehr homogenen Gattungen wie z.B. *Xanthomonas campestris*, *Fusarium* aber auch verschiedene Oomyceten. So dass die PCR-Technik trotz der zahlreichen Vorteile gegenüber den beschriebenen klassischen Techniken noch nicht routinemäßig eingesetzt wird.

PathoScan hat ein Verfahren entwickelt mit dem es gelingt dieses Problem zu lösen. Dadurch ist es möglich auch sehr eng verwandte Arten der PCR-Diagnostik zugänglich zu machen. Beispiel *Per. swinglei* s.l.: Mit unserem PCR-basierte Nachweis erhielten wir in einem Vergleichstest mit Erbgutproben von *Ocimum basilicum*, *Peronospora tabacina*, *Pseudoperonospora humuli*, *Phytophthora infestans* und *Botrytis cinerea* nur

mit dem Erbgut von *Per. swinglei* s.l. ein positives Testergebnis. Unser Entwicklungsverfahren ist übertragbar und ermöglicht daher die rasche Entwicklung neuer spezifischer PCR-Nachweise für eine Vielzahl von Erregern. Beispiel *Per. valerianellae*: In einem Vergleichstest wurden, neben zahlreichen weiteren Oomyceten, die oben aufgeführten Erbgutproben eingesetzt. Ergebnis: Nur für *Per. valerianellae* konnte ein positives Testergebnis erhalten werden.

### Praxistest Saatgut

*Per. swinglei* s.l.: Aus der Epidemiologie des Falschen Mehltaus des Basilikums zogen wir den Schluss, dass Saatgutchargen in großem Umfang kontaminiert sein müssen. In der Saison 2006/2007 haben wir daher 25 Saatgutproben unterschiedlicher Herkünfte und Sorten untersucht. Ergebnis: 17 Proben wurden positiv getestet. Mit einer weitere Ausbreitung des Erregers und den damit verbundenen Ertragsverluste ist daher zu rechnen.

*Per. valerianellae*: In einem ersten Praxistest wurden zwei Saatgutchargen beprobt, beide zeigten eine Kontamination mit dem Erreger. Im Vergleich dazu zeigte der Grow-out keinen erkennbaren Befall an. Wie das Beispiel zeigt, kann durch den Einsatz der PCR die Nachweisgrenze, die im Fall des Grow-out Tests bei Feldsalat bei 1 infizierter auf 100 gesunde Samen liegt, unterschritten werden.

Ergänzend zur bisherigen qualitativen Aussage ist die Adaption unserer Nachweise auf die Real-Time-PCR Technik geplant. Zielsetzung hierbei ist zum einen eine genaue quantitative Aussage über die Kontamination zu erreichen, zum anderen soll die Vitalität der Erreger erfasst werden.

**Autoren:** Dr. Frank BRÄNDLE und Dr. Marco THINES, PathoScan GbR, Garbenstraße 30, D-70593 STUTTGART; Dipl.-Ing.agr. Hans-Jakob SCHÄRER, Forschungsinstitut für biologischen Landbau (FiBL), Ackerstraße, CH-5070 FRICK; Lena PENZKOFER, TU München, Arcisstraße 21, D-80333 MÜNCHEN

# Technology changes in the Hungarian hybrid maize seed industry over the past 50 years

G. TAKÁCS, S.Z. RUTTHNER, J. PINTÉR and CS. L. MARTON

The first written evidence of maize production goes back five thousand years, to the Maya culture. Compared with this, modern hybrid maize, with its fifty-year history, is still in its infancy.

The first major step towards hybrid maize was the development of maize lines, which began about a hundred years ago (EAST, SHULL 1909). The history of hybrid maize in Hungary began with the registration and marketing of the hybrid MV5. Up till then, no special technology had been required for seed production and sowing. The farmers simply shelled cobs from the previous year and sowed the seed by hand, using a seed drill. With the development of lines, mass crossing and mechanical sowing, it became necessary to elaborate a large-scale technology for seed production.

The first seed drier was installed in Martonvásár in autumn 1956, while 1957 saw the construction of the first seed plants, which underwent substantial reconstruction in the 1970s. Four new plants have been built since 1987 (Kiskun Research Centre, Kiskunhalas; IKR, Bábolna; Pioneer, Szarvas; Syngenta, Mezőtúr).

The history of developments in the seed industry has simply followed the need to

satisfy requirements stemming from the physiological, chemical and biological properties of the seed.

The seed represents the value created by breeders in new hybrids. The seed must therefore equal the hybrid in excellence. The criteria are very strict: the seed sold to farmers should contain only genetically pure, undamaged kernels (technical purity), almost all of which are capable of growing into viable, fertile plants (germination ability, cold test index). This necessitates a high standard of field multiplication (mass crossing) and great care in handling the seed produced by the plants.

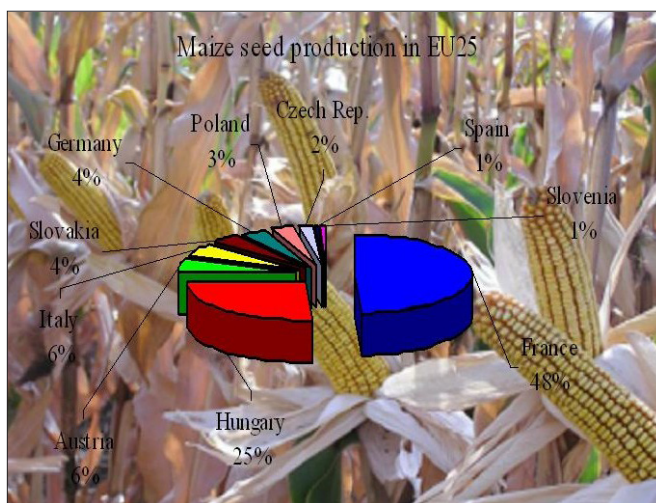
One major criterion for successful field multiplication is that the parental lines should flower in synchrony. Despite many efforts, the only technique that has proved effective is the careful choice of sowing date. This is no longer the subject of research, but variations in the number of male lines, the ratio of male and female rows and the territorial ratio of the male rows compared to the female rows have led to important technological solutions. The aim of field multiplication technologies is to achieve the best rate of fertilisation for the given hybrid, which

means choosing the most appropriate row ratio and the best number and arrangement of male rows, which may be anything from none to an 8:2 ratio.

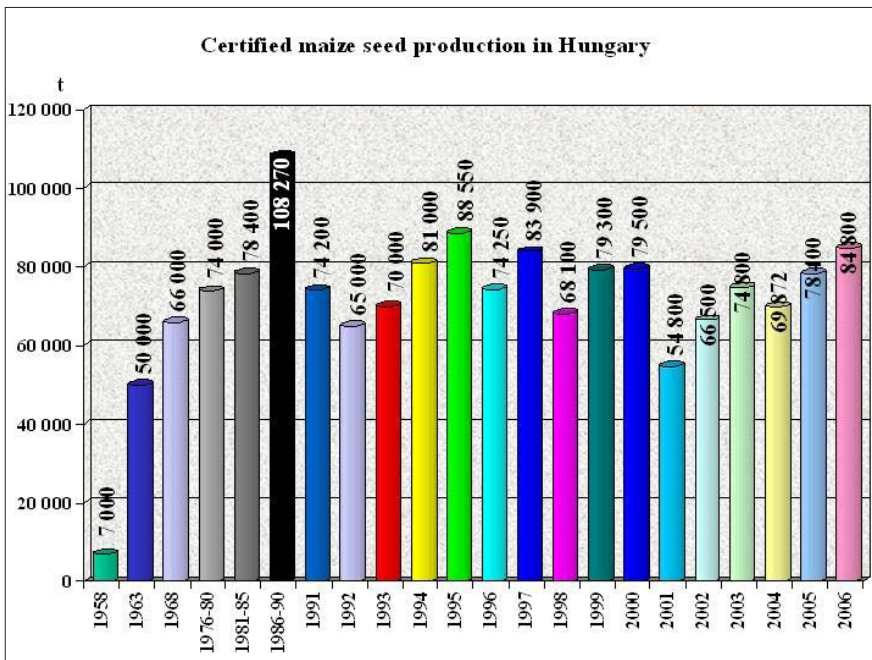
Genetic purity is also determined in the field, and little can be done to improve it in later stages of the technology. The removal of non-typical plants and of the tassels of female plants is carried out mainly by hand in order to ensure that the female line cannot act as pollinator. This can also be achieved by using male sterile lines, but in the vast majority of cases detasselling is applied in practice.

Due to the declining availability of manual workers, mechanical solutions are being increasingly sought. Harvesting is now carried out exclusively by machines. Whether harvesting is carried out with or without dehusking depends on the technology applied in the seed plant and on the opinions of the relevant experts. The starting and finishing dates of harvest are crucial and the choice of the optimum date is based on regular checks on the grain moisture content.

The technology applied is also a limiting factor, but considerable progress has been achieved in this field. The most up-to-date driers for corn on the cob are



**Autoren:** President Géza TAKÁCS and S.Z. RUTTHNER, Hungarian Seed Association and Council; J. PINTÉR and Dr. Lajos Csaba MARTON, Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences Martonvásár, Ábel Jenő u. 4/b, H-1113 BUDAPEST, vetomag@hu.inter.net



capable of drying maize with a high (38-42%) moisture content to the optimum 12-13% level using extremely gentle water extraction.

The level of technical purity depends primarily on the processing of the dry seed, followed by size grading (seed width and thickness), calibration (width, thickness and length) and selection based on specific weight. Calibration has exhibited the greatest variation over the years, beginning with a single fraction and at one time involving separation into 16-18 fractions, while nowadays only 2-4-6 fractions are distinguished.

This can be attributed mainly to technical improvements in seed drills and to the uniform size of the kernels within each line.

Seed protection has been an important aspect right from the start, and there can be no doubt that fungicidal seed dressing is essential for the production of seeds satisfying modern criteria and is now required by law. Many different formulations of seed dressing agents were used in earlier years, but now only liquid dressing agents are used, which provide excellent adhesion on the seed. The greatest advances have been made

in the field of insecticidal seed dressing, where instead of the traditional litre/tonne rates, the quantities are now calculated for individual seeds. For this purpose computer-controlled seed dressing machines have been developed, which are now an integral part of all up-to-date seed processing plants.

In the field of packaging, the emphasis is now on the use of environment-friendly materials. Instead of plastic sacks, the seed is now packed in paper sacks or boxes. Each sack contains the quantity of seed required for unit sowing area (50,000, 70,000 or 80,000 seeds per sack).

Hungarian regulations on quality have always been extremely strict. The seed was originally classified as first or second grade, but these categories disappeared when Hungary entered the European Union. The general principle now is that only the top quality is saleable. Due to the fierce competition, there is now an unwritten law that any maize seed with a germination percentage of less than 93% cannot be sold as seed.

The development of the seed industry in Hungary can be regarded as a success story. This can be attributed to the rapid rate of development in breeding, leading to the release of excellent hybrids for farm cultivation, and thereby making it essential to produce seed of the best possible quality.



# Brandkrankheiten bei Weizen - Erfahrungen und Ergebnisse aus der Saatgutuntersuchung und Stand der derzeitigen Diskussion

B. KILLERMANN, B. VOIT und P. BÜTTNER

## Einleitung

Weizensteinbrand oder Stinkbrand (*Tilletia caries* oder *Tilletia tritici*) und der vorwiegend regional vorkommende Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) waren vor der Einführung der Saatgutbeizung vor knapp 100 Jahren die wichtigsten Krankheiten bei Weizen, da das Erntegut weder als Saat- noch als Konsumware verwertet werden konnte.

Weizensteinbrand ist national wie auch international die wichtigste und bei Weizen am häufigsten auftretende samenbürtige Krankheit im Ökologischen Landbau. Brandkrankheiten bei Weizen sind heute wieder dort „brandaktuell“ wo nicht bzw. mit unwirksamen Mitteln oder zu geringen Aufwandmengen gebeizt wird - sei es aus wirtschaftlichen oder ökologischen Gründen.

Seitdem Saatgut gebeizt wird, treten Brandkrankheiten nicht mehr in nennenswertem Umfang auf. In den letzten Jahren haben Befallsmeldungen wieder zugenommen. Der Befall ist im Ökologischen Landbau als auch in der konventionellen Landwirtschaft festzustellen. Besonders stark war der Befall in den Erntejahren 2004 für Steinbrand und 2006 für Zwergsteinbrand.

Zwergsteinbrand ist bodenbürtig, Steinbrand galt lange Zeit als samenbürtig. In den letzten Jahren häuften sich Hinweise auf die Bodenbürtigkeit, die durch erste Versuchsergebnisse bestätigt wurden.

Die Saatgutprüfstelle Freising führte 2004 erstmals einen Versuch bezüglich der Bodenbürtigkeit durch. Auf einem mit Steinbrand natürlich verseuchten Praxisschlag wurde befallsfreies Saatgut und mit Steinbrand gezielt infiziertes Saatgut ungebeizt und gebeizt ausgesät und das Erntegut untersucht. Die Boden-

bürtigkeit konnte damit auch bestätigt werden. Die Brandsporensituation in Bayern und Untersuchungsergebnisse von Öko-Weizenvermehrungen der Jahre 2000-2007 werden vorgestellt und diskutiert.

## Biologie der Brandkrankheiten

Beim Dreschen werden die Brandbutten zerschlagen, wobei die Butten des Zwergsteinbrandes etwas schwerer aufplatzen, da sie härter sind. Die freiwerdenden klebrigen Sporen haften an den Körnern vornehmlich am Bart, sowie am Stroh und gelangen in den Boden. Nach der Aussaat des Weizens beginnen die Sporen zu keimen und dringen in den Keimling ein. Zusammen mit der Ährenanlage wächst der Pilz in der Pflanze hoch. Nach dem Ährenschieben entwickeln sich in den Samenanlagen anstelle der Körner Sporenlager, die sogenannten Brandbutten.

Bei Steinbrand erfolgt die Infektion während der Keimung. Eine langsame Keimung fördert die Infektion, daher kommt es nach kühlen und/oder trockenen Bedingungen während des Auflaufens zu einem höherem Befall (2004). Das Temperaturoptimum für die Infektion beträgt 7-10 °C.

Zwergsteinbrand infiziert während der Bestockung unter einer langandauernden Schneedecke (2-3 Monate) bei relativ niedrigen Temperaturen von 0-5 °C und gewissem Lichteinfluss, d.h. Verhältnisse wie sie unter Schneedecken anzufinden sind (2006).

Daher war Zwergsteinbrand bislang räumlich begrenzt in Mittelgebirgslagen und länger schneebedeckten Lagen zu finden. Neuerdings tritt er jedoch auch in Höhenlagen unter 500 m NN auf.

## Eigenschaften der Brandkrankheiten

Mit Steinbrand infizierte Pflanzen zeigen bis zu 1/3 eingekürzte Halme, die Ährenspindel ist gestreckt und die Ährchen sind etwas gespreizt. Die Brandsporen enthalten das Gift Trimethylamin (TMA), das nach „Heringslake“ riecht.

Dieser Geruch ist beim Stein- bzw. Stinkbrand besonders stark ausgeprägt. Einen starken Befall im Feld erkennt man mit der Nase schneller als mit dem Auge.

Bei Zwergsteinbrand hingegen sind die Halme sehr stark verkürzt, bis zu 2/3 gegenüber der Normlänge.

Steinbrand ist in erster Linie samenbürtig. Die Bodenbürtigkeit, sprich die Überdauerung im Boden, wird erst seit einigen Jahren diskutiert. Die Überlebensdauer im Boden wird derzeit mit 2-5 Jahren angesetzt.

Zwergsteinbrand ist meist bodenbürtig und es kommt erschwerend hinzu, dass die Sporen 10 Jahre und länger lebens- und infektionsfähig sind. Das Freisein des Saatgutes von Zwergsteinbrandsporen ist aber insofern von Bedeutung, da der Erreger mittels Saatgut in bisher unbelastete Böden verschleppt werden kann und diese Flächen infiziert.

Steinbrand infiziert hauptsächlich Winterweizen und Dinkel, unter Umständen auch Sommerweizen. Zwergsteinbrand tritt bei Winterweizen, Dinkel aber auch bei Winterroggen und Triticale auf. Bei beiden Brandarten ist der Befall nur bei Winterweizen und Winterdinkel wirtschaftlich relevant.

Speziell in Fruchtfolgen mit hohem Wintergetreideanteil können sich Steinbrand und Zwergsteinbrand relativ rasch etablieren. Kommt es zu einer Anhäufung

**Autoren:** Dr. Berta KILLERMANN und Dipl.-Ing. Benno VOIT, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft Freising, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, AG Saatgutuntersuchung/Saatgutforschung; Peter BÜTTNER, Institut für Pflanzenschutz, AG Mykologie, Lange Point 6, D-85354 FREISING, berta.killermann@lfl.bayern.de

des Infektionspotentials lassen sich die Ertrags- und Qualitätseinbußen später auch nicht mehr durch andere Pflanzenschutzmaßnahmen verhindern.

### Schäden durch die Branderreger

Wird Weizen von Brandkrankheiten befallen, führt dies zu erheblichen Qualitätsverlusten. Der Weizen riecht nach Heringslake. Ab einem Besatz von ca. 10.000 Sporen/Korn kann man den Befall riechen. Mit Brandbutten besetzter Weizen liefert graues und stinkendes Mehl das ungenießbar ist. Sobald der Weizen grau und stumpf (Sporenbesatz) aussieht und auch nur geringfügig nach Heringslake riecht wird die Ware von den Lagerhäusern nicht mehr angenommen oder nur mit entsprechend hohen Preisabschlägen. Stark befallene Partien können weder als Speise- noch als Futtermittel vermarktet werden, häufig bleibt für befallenen Weizen nur noch die thermische Verwertung.

Die Verfütterung von brandbefallenem Weizen ist im begrenzten Umfang möglich. Erhöhte Anteile in der Ration können bei Masttieren zu verringerten Mastleistungen führen und bei trächtigen Tieren zum Verferkeln und Verkalben. Nicht abgebautes TMA kann bei Legehennen auch direkt in die Eier, bei Milchkühen in die Milch und in Brennereien in den Alkohol gelangen, mit der Folge, dass diese Produkte Fischgeruch aufweisen (<http://www.oekolandbau.de>).

Neben dieser Qualitätsminderung des Erntegutes kann es auch zu erheblichen Ertragseinbußen durch die Branderreger kommen. So kann ein Befall mit Zwergsteinbrand den Ertrag um 15-25% schmälern. Bei Steinbrand ist mit Ertragseinbußen zu rechnen, wenn der Anteil der befallenen Ähren 5% überschreitet (massiver Befall).

### Feldversuch mit Steinbrand (*Tilletia caries*) auf einem Praxisschlag

Aus der Praxis liegen Meldungen vor, dass gesundes Zertifiziertes Saatgut ausgesät wurde, das Erntegut jedoch einen massiven Steinbrandbefall aufwies und nicht mehr als Backweizen verwendet werden konnte. Diese Problematik war

der Anlass für den Feldversuch bezüglich der Bodenbürtigkeit von Steinbrand. Der Feldversuch wurde im Herbst 2004 einjährig, einortig, mit 4 Wiederholungen auf 10 m<sup>2</sup> Parzellen durchgeführt. Auf dem Praxisschlag stand stark mit Steinbrand befallener Weizen als Vorfrucht. Das Stroh wurde gehäckselt und verblieb auf dem Feld. Damit war genügend Infektionsmaterial im Boden. Zur Saatbettbereitung wurde auf den Pflug bewusst verzichtet um die Brandsporen nicht zu vergraben, stattdessen wurde tief gegrubbert. Ausgesät wurde befallsfreies und befallenes Saatgut. Alle Varianten wurden ungebeizt und gebeizt ausgesät. Als Beizmittel wurden die gegen Steinbrand wirksamen Präparate Celest<sup>®</sup>, Jockey<sup>®</sup>, Arena C<sup>®</sup> und Landor CT<sup>®</sup> verwendet. Die Parzellen wurden mit dem Mähdrescher geerntet. Es wurde darauf geachtet, dass während der Ernte keine Verschleppung der Sporen von Parzelle zu Parzelle stattfand. Die Brandsporenuntersuchung erfolgte nach den Methoden des Handbook on Seed Health Testing der International Seed Testing Association (ISTA).

Bei der Variante befallsfreies Saatgut und ungebeizte Aussaat wurden mehr als 19.000 Sporen/Korn ermittelt (Tabelle 1). Bei den gebeizten Varianten wurden zwischen 2.000-4.000 Sporen/Korn festgestellt. Damit hat sich gezeigt, dass Steinbrandbefall auch vom Boden ausgehen kann und kein Beizmittel in der Lage war den Befall zu verhindern, aber zu dezimieren.

Beim befallenen Saatgut war in allen Kombinationen der Befall im Erntegut meist höher als beim befallsfreien Saatgut. In der ungebeizten Variante wurden mehr als 25.000 Sporen/Korn festgestellt, bei den gebeizten Varianten lag der Befall zwischen 2.000 und 6.500 Sporen/Korn. Der Befall mit Zwergsteinbrand (*Tilletia controversa*) konnte durch die Laboruntersuchungen ausgeschlossen

werden.

### Der Brandsporenbesatz an Saatgut in Bayern und seine Bewertung

Eine entscheidende und sehr wichtige Frage ist bis zu welchem Befall Saatgut, das mit Brandsporen infiziert ist als Saatgut verwendet werden kann - immer unter der Voraussetzung, dass das Infektionspotential im Boden niedrig ist.

Im Rahmen der amtlichen Saatenanerkennung liegen gesetzlich vorgeschriebene Normen nur für die Feldbesichtigung vor. Die Aberkennung eines Vermehrungsbestandes erfolgt für Steinbrand ab 3 bzw. 5 befallener Pflanzen/150 m<sup>2</sup> und für Zwergsteinbrand ab 1 befallenen Pflanze/150 m<sup>2</sup>.

In der Beschaffenheitsprüfung wird Saatgut auf seinen Gesundheitszustand überprüft. Die Saatgutverordnung Landwirtschaft macht für Weizen jedoch keine Angabe über die maximal zulässige Anzahl von Brandsporen/Korn. Die Aussage beschränkt sich darauf, dass Saatgut nicht in „größerem Ausmaß“ von Brandkrankheiten befallen sein darf.

Diese Situation hat in Bayern dazu geführt, dass die Ökoverbände in enger Zusammenarbeit mit der Saatgutprüfstelle Freising einen Schwellenwert von maximal 20 Sporen/Korn bei Steinbrand eingeführt haben, der sich an Erfahrungswerten aus Versuchen und der Praxis orientiert. Liegt der Befall höher als 20 Sporen/Korn geben die Öko-Verbände diese Ware als Saatgut in Bayern nicht zum Anbau frei. Bei einem höheren Befall ist eine Behandlung notwendig. Dies kann mit einer Bürstmaschine oder in absoluten Ausnahmefällen mit einer Elektronenbehandlung erfolgen. Bei einem Befall von über 100 Sporen/Korn ist eine Behandlung nicht mehr wirtschaftlich.

Für Zwergsteinbrand existiert kein

Tabelle 1: Ergebnisse des Feldversuches mit Steinbrand (2004/2005)

befallsfreies Saatgut		befallenes Saatgut	
Behandlung	Sporen/Korn	Behandlung	Sporen/Korn
ungebeizt	> 19.000	ungebeizt	> 25.000
Celest <sup>®</sup>	> 2.000	Celest <sup>®</sup>	> 6.500
Jockey <sup>®</sup>	> 4.000	Jockey <sup>®</sup>	> 3.000
Arena C <sup>®</sup>	> 2.000	Arena C <sup>®</sup>	> 2.000
Landor CT <sup>®</sup>	> 2.500	Landor CT <sup>®</sup>	> 5.000

**Tabelle 2: Ergebnisse der Steinbranduntersuchung Bayerischer Öko-Weizenvermehrungen der Jahre 2000-2007 (n.e. = nicht ermittelt)**

Erntejahr	2000	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Anzahl Proben	33	37	37	35	47	24	25	22
Anteil Proben mit <i>T. caries</i> > 20 Sporen/Korn (in %)	10	17	25	21	50	15	32	13
Anteil Proben mit <i>T. controversa</i> (in %)	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	n.e.	63
Anteil Proben frei von <i>Tilletia</i> sp. (in %)	0	11	0	0	3	0	5	19

Schwellenwert. Zwergsteinbrand ist in der Beschaffenheitsprüfung nicht problematisch, da er in der Feldbesichtigung sehr gut erkannt werden kann und die Vermehrungen bereits hier aberkannt werden, d.h. stark mit Zwergsteinbrand befallene Vermehrungen tauchen in der Beschaffenheitsprüfung deshalb nicht auf.

In *Tabelle 2* sind die Untersuchungsergebnisse Bayerischer Öko-Weizenvermehrungen von 2000-2007 dargestellt. Jedes Jahr wurden aufgrund des überhöhten Sporenbesatzes Vermehrungen von den Ökoverbänden als Saatgut für den Anbau nicht freigegeben. Deutlich ist zu erkennen, dass der Steinbrandbefall sehr stark von der Witterung abhängig ist. Im günstigsten Falle wurden im Jahr 2000 10% der Vermehrungen als Saatware nicht in Verkehr gebracht. Aufgrund der klimatischen Verhältnisse im Herbst 2003 waren die Infektionsbedingungen für Steinbrand außerordentlich günstig und führten in 2004 dazu, dass nur 50% der Vermehrungen für den Anbau geeignet waren. Analog dazu waren im Erntejahr 2004 auch die Konsumbestände besonders stark befallen und konnten oftmals nicht der beabsichtigten Verwertung zugeführt werden. Seit dieser Zeit sind die Landwirte bezüglich der Steinbrandproblematik sensibilisiert.

Für Zwergsteinbrand erfolgten in 2006 die ersten Aberkennungen durch die Feldbesichtigung. Der Winter 2005/2006 mit der langen Schneebedeckung und darunter nicht gefrorenem Boden hat hervorragende Infektionsbedingungen geboten. Das Zwergsteinbrandjahr 2006 war der Auslöser für die Entscheidung ab 2007 bei der Brandsporenenuntersuchung zwischen Steinbrand und Zwergsteinbrand genau zu differenzieren. Diese Differenzierung brachte zu Tage, dass Zwergsteinbrand sehr häufig als Mischinfektion mit Steinbrand auftritt. Im Gegensatz zu Steinbrand sind reine Zwergsteinbrandinfektionen selten zu

beobachten. Bei 63% der Proben wurde Zwergsteinbrandinfektion festgestellt, jedoch lag der Besatz im Durchschnitt stets unter 10 Sporen/Korn, was mit Sicherheit auf das leichte Erkennen in der Feldbesichtigung zurückzuführen ist. Sehr überraschend ist, dass Zwergsteinbrand trotz Klimaerwärmung auch in tieferen Lagen bis 500 m NN festgestellt wird.

Wie aus *Tabelle 2* ersichtlich ist der Anteil der Proben, die völlig frei von *Tilletia* sp. sind sehr gering, d.h. es ist stets latenter Befall vorhanden.

### Maßnahmen zur Reduzierung bzw. Verhinderung des Steinbrandbefalles

Mit Brandkrankheiten infizierte Getreidebestände können durch Pflanzenschutzmaßnahmen nicht mehr saniert werden. Hauptaugenmerk ist daher auf vorbeugende Maßnahmen zu legen.

In der konventionellen Landwirtschaft ist die wichtigste Maßnahme die Verwendung von Zertifiziertem und gebeiztem Saatgut. Bei den Beizmitteln muss darauf geachtet werden, dass sie wirksam gegen Brandkrankheiten sind und in den vorgeschriebenen Konzentrationen angewendet werden. Im Zuge der Kosteneinsparung ist ein Teil der Landwirte jedoch der Meinung sich die Kosten für anerkanntes, Zertifiziertes und gebeiztes Saatgut sparen zu können. Wie die Praxis zeigt funktioniert das ein paar Jahre gut bis die Brandkrankheiten wieder zum Problem werden, wie zuletzt in den Jahren 2004 bzw. 2006. Die Elektronenbehandlung weist hohe Wirkungsgrade gegen den Brandsporenbesatz auf und ist zudem kostengünstiger als die chemische Beizung. Durch die fehlende Wirkung gegen Schneeschimmel findet dieses Verfahren in Bayern keine Anwendung.

Auch im Ökologischen Landbau steht der Einsatz von Zertifiziertem Saatgut an erster Stelle der Maßnahmen. Da im

Ökologischen Landbau die chemische Beizung verboten ist und die alternativ zugelassenen Mittel (z.B. Tillecur®) schwierig in der Anwendung und nicht immer sicher in der Wirkung sind (<http://www.forschung.oekolandbau.de>), muss das Saatgut zusätzlich auf Befall mit Steinbrand untersucht werden, um eine Aussage über die Anbaufähigkeit treffen zu können. Die Elektronenbehandlung basiert auf Bestrahlen des Getreides und wird deshalb von den Ökoverbänden nur in absoluten Ausnahmefällen und Notsituationen zugelassen.

Brandbutten sind leichter als Getreidekörner, sie können bei entsprechender Steuerung der Windsichtung herausgereinigt werden, jedoch ist eine vollständige Eliminierung der Brandbutten nicht möglich. Mit der Bürstmaschinen kann eine Reduzierung des Befalles erreicht werden.

Bei der Verwendung von Nachbasaatgut muss darauf geachtet werden, dass es aus brandfreien Betrieben kommt, zudem ist eine Bestimmung des Sporenbesatzes am Saatgut unerlässlich. Die Kosten der Untersuchung stehen in keinem Verhältnis zum möglichen wirtschaftlichen Schaden.

Brandsporen können auf alle Maschinen mit denen sie in Berührung kommen übertragen werden. Vor allem beim überbetrieblichen Maschineneinsatz (Lohndrusch) kommt es sehr häufig zur Kontamination von ursprünglich gesunder Ware. Bei „Brandverdacht“ muss darauf geachtet werden die Sporen nicht zu verschleppen, d.h. eine gründliche Reinigung (Dampfstrahler) der gesamten Maschinenkette ist zwingend geboten.

Eine wichtige pflanzenbauliche Maßnahme ist die Einhaltung einer weiten Wintergetreidefruchtfolge, insbesondere bei Zwergsteinbrand, da dieser alle Sommergetreidearten nicht infiziert.

Aufgrund von Zeit und Kostenersparnis nimmt auch die Minimalbodenbearbeitung zu. Damit verbleibt mehr Infekti-

onsmaterial an der Bodenoberfläche und das Infektionsrisiko steigt.

Mit dem Anbau von toleranten bzw. geringer anfälligen Sorten kann der Verhinderung einer Brandinfektion Rechnung getragen werden. Die Sorten/Zuchtlinien *Tommi, Tambor, Tarso, Tataros, Cardos, Korund, Stava, Magnifik, SW51126* und *Jakobi* zeigen sich tolerant bis gering anfällig gegenüber Steinbrand.

Eine vergleichsweise geringe Anfälligkeit gegenüber Zwergsteinbrand zeigen die Sorten/Zuchtstämme *Tommi, Pegasos, Toronto, Tambor, Tarso, Tataros, Ataro, Ökostar, Cardos, Korund, Stava, Magnifik, SW51126*, und *Jakobi* (<http://www.forschung.oekolandbau.de>).

Die gering anfälligen bzw. toleranten Sorten haben aber oft keine Anbaubedeutung, da sie in den Eigenschaften Qualität und Ertrag meist nicht den Erwartungen entsprechen.

## Zusammenfassung und Ausblick

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass Steinbrandbefall nicht nur vom Saatgut, sondern wie der Versuch gezeigt hat auch vom Boden ausgehen kann. Selbst Beizung kann einen Befall vom Boden

aus nicht verhindern, aber deutlich reduzieren.

Zwergsteinbrand tritt fast immer als Mischinfektion zusammen mit Steinbrand auf.

Die dargestellten Ergebnisse des Brandsporenbefalls im Zeitraum 2000-2007 zeigen einen relativ konstanten Verlauf. Eine Ausnahme bilden die beiden Brandjahre 2004 und 2006, das sich immer wiederholen kann. Dies bestätigt die Richtigkeit des eingeführten Schwellenwertes von 20 Sporen/Korn.

Damit sich die Brandproblematik bei Weizen weiterhin rückläufig entwickelt, müssen die Landwirte wieder mehr auf den Saatgutwechsel und im Ökologischen Landbau auf gesunde Fruchtfolgen achten. Zertifiziertes Saatgut darf nicht nur als Kostenfaktor betrachtet werden, sondern leistet auch einen wesentlichen Beitrag für gesunde Ernten, die je nach Anbauzweck als Saat- oder Konsumware verwertet werden können. Nachbausaatgut sollte nur nach professioneller Saatgutuntersuchung eingesetzt werden.

Bei dieser Untersuchung ist auf eine exakte Differenzierung zwischen Steinbrand und Zwergsteinbrand zu achten. Einheitliche und effiziente Methoden für den sicheren und zuverlässigen

Nachweis und die Unterscheidung von *Tilletia* Arten am Saatgut und im Boden sind zwingend erforderlich.

Der Einfluss des Bodens als Infektionsquelle muss künftig mehr in den Focus gerückt werden, um insbesondere Problembetrieben Lösungen an die Hand geben zu können.

In einem Forschungsprojekt wird derzeit untersucht inwieweit der Brandsporenbefall am Saatgut als alleiniger Grenzwert für die zu erwartende Ernte ausreicht, oder ob das vorhandene Infektionspotential im Boden eine größere Rolle spielt als bisher angenommen wird. Bei allen bisher durchgeführten Projekten und Versuchen wurde diese Fragestellung nicht berücksichtigt bzw. untersucht.

Trotz aller Maßnahmen zur Reduzierung bzw. Verhinderung des Steinbrandbefalles ist die Resistenzzüchtung gefordert. Sorten bereit zu stellen, die neben der Toleranz gegenüber den Brandkrankheiten auch in den agronomischen und qualitativen Eigenschaften zufriedenstellend sind.

## Literatur

<http://www.forschung.oekolandbau.de>

<http://www.oekolandbau.de>

International Seed Testing Association (ISTA)  
Handbook on Seed Health Testing, Zürich  
Schweiz

# Conventional breeding and biotechnological methods for the control of Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*)

L.C. MARTON, C. SZÓKE and J. PINTÉR

## Summary

The presentation covers the impact of western Corn Rootworm on the Hungarian maize production, and deals with the possible protection means, like crop rotation, usage of insecticide and breeding with conventional methods and transgenic solution.

## Key words

Resistance breeding, *Diabrotica virgifera virgifera*

## Introduction

The Western corn rootworm (*Diabrotica virgifera virgifera*), first described almost 100 years ago (GILLETTE 1912), appeared in Europe 15 years ago (BAČA 1993) and has already become a major maize pest. Specimens were first caught in Hungary in 1995 and the pest took only eight years to spread to all major maize-growing regions of the country, in many of which it causes serious economic losses. According to surveys made in the USA, the economic losses caused by the Western corn rootworm amount to an annual 800 million dollars, with another 200 million dollars being spent on pest control (KRYSAN and MILLER 1986). Investigations made by SIVCEV and TOMASEV (2002) showed that in Southern Europe yield losses due to Western corn rootworm damage averaged 30% on infected fields, with a range of 1-70%. In Hungary, more than 105,000 hectares are estimated to be affected, with damage due to plant lodging on approximately a third of this area (RIPKA 2004).

The Western corn rootworm has a single generation a year and overwinters in egg form in the soil. Under Hungarian conditions the larvae emerge between mid-May and mid-July (HATALÁNE and RIPKA 2001). The major damage is

caused by feeding on the roots, leading to reduced plant uptake of nutrients and water and causing the plants to lodge when exposed to strong winds. Secondary damage is caused by the imagos, which feed on leaves, pollen and silks, resulting in poorer fertilisation and consequent losses both for commercial maize production and seed production. In addition, injuries to the ears lead to a loss of quality, especially in the case of sweetcorn, as they facilitate attacks by secondary pests such as *Fusarium* sp. and *Ustilago maydis*.

Control measures against Western corn rootworm are essential to prevent damage and eliminate or mitigate economic losses.

### A. Control measures against Western corn rootworm

Crop rotation is one of the most important and efficient methods for the agronomic control of the Western corn rootworm. Regulations in Hungary ban the sowing of maize on fields where *Diabrotica* larvae were found in the previous year. Small-scale farmers in Hungary tend to be reluctant to change to crops less profitable than maize, but crop rotation has the advantage that it does not pollute the environment and is at present the cheapest and most efficient way of controlling the pest.

Experiments are underway to develop other forms of biological control, involving the use of entomopathogenic fungi or predatory spiders, but so far these methods do not provide satisfactory control of the corn rootworm.

Among the various forms of chemical control, seed dressing or soil disinfection can be used to prevent larval damage, while field or aerial spraying can be employed against the imagos. Seed dressing does not provide satisfactory protection

against the pest, while soil disinfection is only effective if the application is correctly timed, to coincide as closely as possible with the emergence of the larvae. The insecticides currently available are able to destroy 70-80% of the imagos, thus reducing the insect population in the following year. The disadvantage of this means of control is that imagos may recolonise the fields from untreated neighbouring areas.

The aim of control is to prevent or limit contact between the corn rootworm and the maize plant. This can best be achieved by integrated plant protection, which takes into consideration the whole of the given agro-ecosystem and employs various techniques to protect crops without damaging useful organisms and without polluting the biological environment. One important component of integrated plant protection is resistance breeding

### B. Resistance breeding

The importance of resistance breeding lies in the fact that resistant plants have genetically determined traits that enable them to defend themselves against pests. Resistant varieties have complete resistance to the given pest, while tolerant plants have only partial resistance. PAINTER (1951) reported three basic mechanisms of host-plant resistance: non-preference, antibiosis and tolerance. Non-preference is based on plant traits which lead to the insect rejecting the plant as a habitat, feed plant or refuge, i.e. an allelopathic relationship develops due to perception by the herbivorous insect. When we speak of resistance as a plant trait, rather than as a response by the pest, Kogan and Ortman suggested using the term antixenosis, meaning the ability of plants to repel insects. Antibiosis is the sum of factors that have a damaging effect on the life-cycle and metabolism of insects feeding on resis-

**Autoren:** Dr. Lajos Csaba MARTON, C. SZÓKE and J. PINTÉR, Agricultural Research Institute of the Hungarian Academy of Sciences, MARTONVÁSÁR, Hungary, pinterj@mail.mgki.hu

tant host-plants, ranging from retarded development to mortality. Tolerance is the ability of the plant to develop and reproduce despite the damage caused by the pest, and in some cases to repair the damage caused.

Among these three mechanisms, conventional breeding is currently only able to exploit tolerance, as no germplasm with natural resistance to the Western corn rootworm has yet been found in general cultivation or in gene banks. Differences between hybrids tend to be based on plant characteristics such as stronger stalks or greater root mass.

Various selection methods can be applied in resistance breeding, one of which involves selecting for reduced root lodging. This method concentrates on a trait important for growers, as root lodging results in physiological losses due to reduced photosynthesis and to harvesting losses. In addition, a significant correlation has been demonstrated between root lodging and yield losses. The method suffers from the disadvantage that it is greatly dependent on environmental effects. A further possibility is the direct evaluation of root damage by scoring using the Iowa scale (1 = healthy roots, 6 = major root damage), but this is complicated by the fact that the data are not always correlated with yield levels and variation between the genotypes tends to be small.

In Martonvásár the main method used to select for tolerance is the measurement of root resistance, supplemented by root size measurements, the evaluation of root damage and the calculation of the extent of regeneration. Root resistance is the force (kp) required to pull the roots out of the soil. This parameter facilitates efficient genotype selection, as there are considerable differences between the values obtained for this genetically variable trait, while the method can be rapidly and efficiently employed for the testing of large quantities of breeding materials. Root size measurements and the calculation of regeneration are useful in selection, as these traits are closely correlated to the degree of tolerance.

## Material and Methods

Experiments were set up in 2007 at four locations with 79 hybrids in order to de-

termine the level of tolerance to Western corn rootworm.

The locations were chosen on the basis of the level of natural infection with corn rootworm in the previous year. The soil in Kőszárhegy was heavy in texture and was severely infected, while Mezőfalva had a loose soil with moderate infection. Of the two locations in Martonvásár, both had heavy texture, but Lászlópuszta was severely infected, while no infection was recorded in Martonvásár. At each location root resistance measurements were carried out on two occasions (June 22 and Sept. 15), the 79 genotypes were scored for visual root damage using the Iowa scale, and the root diameter was recorded.

## Results

The most severe infection was recorded in Kőszárhegy at the first sampling date, followed by Lászlópuszta, Mezőfalva and Martonvásár, while at the second sampling date the order was Lászlópuszta, Kőszárhegy, Mezőfalva and Martonvásár (Figure 1). A substantial difference was observed between the values recorded on the Iowa scale in Kőszárhegy at the first and second sampling dates. This could be attributed chiefly to the high rate of root regeneration at this location, partly due to the timely arrival of rainfall, which allowed the damaged plants to develop new roots and thus reduced the size of the yield loss. Considerable variation was observed between the genotypes for root

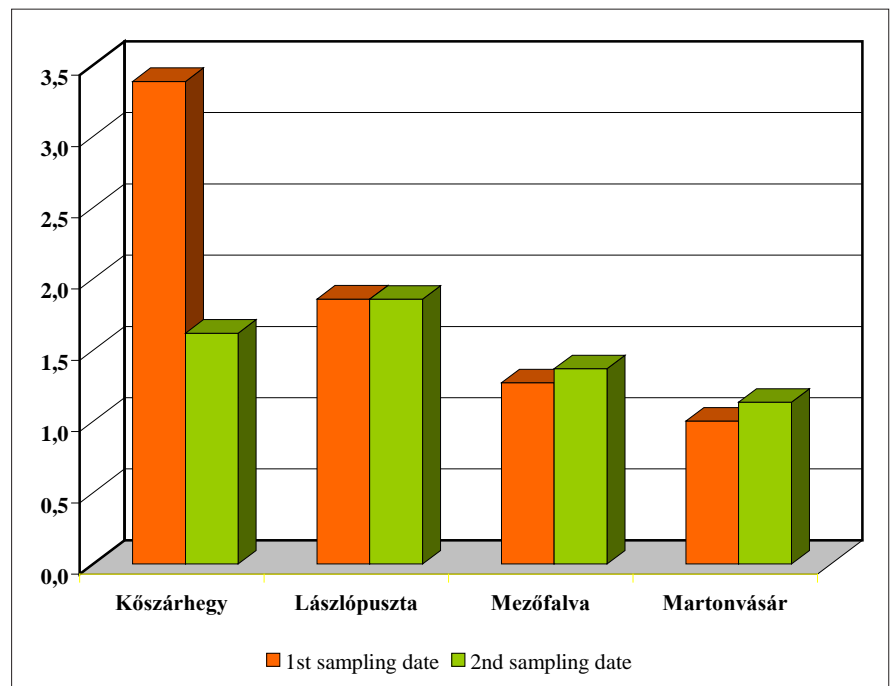


Figure 1: Level of root damage on the IOWA scale, averaged over the hybrids

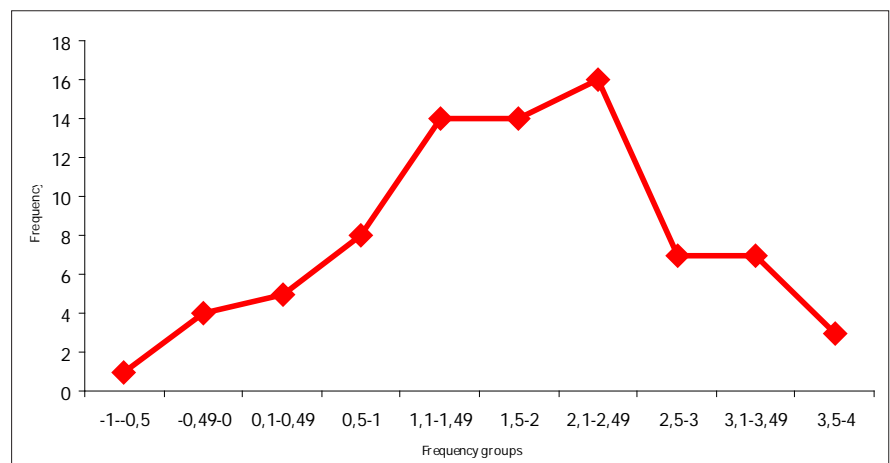


Figure 2: Frequency distribution of root regeneration (KŐSZÁRHEGY 2007)

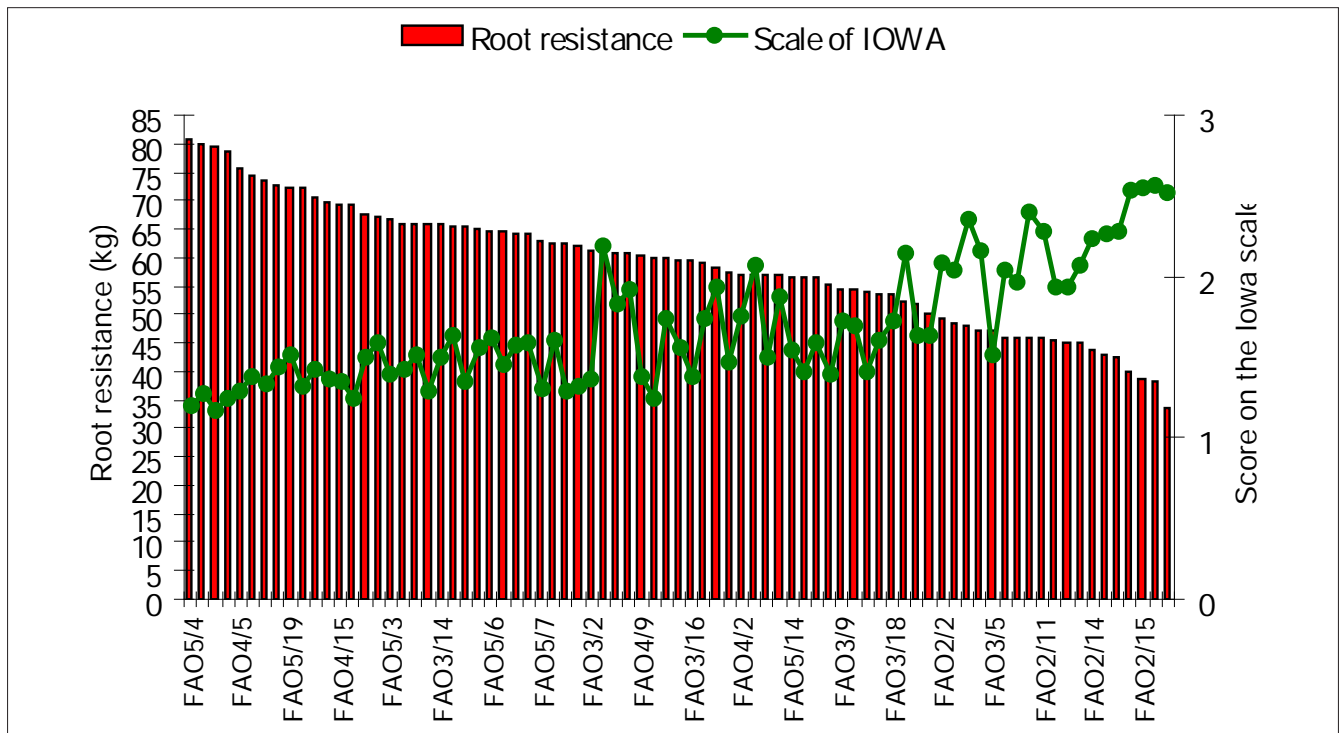


Figure 3: Root resistance values and infection levels (Iowa scale) for the maize hybrids, averaged over four locations in 2007

regeneration ability (Figure 2), suggesting that this trait could be improved by selection.

Substantial differences were observed between the genotypes for root resistance (34-82 kg) and for the scores recorded using the Iowa scale (1.1-2.5) (Figure 3). The greatest force was required to pull up the hybrids with the strongest root system and the least larval damage. It is clear from Figure 3 that the greater the root damage (Iowa scale) the less force was required to remove the plants from the soil. These data confirm the fact that tolerant genotypes could be developed through breeding.

Another way to breed for resistance is to develop transgenic plants, which are completely resistant to the Western corn rootworm. This method exploits a trait based on antibiosis. Maize plants transformed with a gene originating from the bacterium *Bacillus thuringiensis* produce a Bt protein which is toxic to corn rootworm larvae, causing the cessation of the peristaltic motion of the pest and resulting in approximately 100% mortality. The incorporation of this gene into inbred maize lines bred in Martonvásár is currently underway using *in vivo* gene transfer techniques and con-

ventional breeding tools (backcross). A single cross with the donor is followed by 5-6 generations of backcrossing to the recurrent line. *In vivo* gene transfer is required because the desired traits from the transgenic maize line (donor) cannot be transferred into the parental components of the hybrids by means of conventional breeding techniques. Maize hybrids carrying resistance to Western corn rootworm will be subjected to agronomic evaluation, their environmental effects will be studied, selection will be made based on genotypic differences and the seed of transgenic lines will be multiplied.

### Summary

The control of the Western corn rootworm will only be successful if the most appropriate methods are applied in the right place at the right time. One of the most effective defences against the pest is crop rotation. If for any reason this cannot be achieved, chemical plant protection (soil disinfection) is an essential component of the control technology. The cultivation of tolerant maize genotypes also has a place in the control of the corn rootworm, as it can be incorporated into an integrated control

system very simply and at no extra cost to the grower. The cultivation of tolerant genotypes is cheaper, as no chemical plant protection is required in the case of weak or medium infection, which also makes the method environmentally sound and human-oriented, as it does not contaminate the biological environment and no residues toxic to humans will be accumulated in the grain.

Data in the literature indicate that the production of transgenic maize provides more efficient control, so the potential of this technique should be investigated.

### References

- BAČA, F., 1993: New member of the harmful entomofauna of Yugoslavia *Diabrotica virgifera virgifera* Le Conte (Coleoptera: Chrysomelidae). IWGO News Letter, Vol. XIII, (1-2), 21-22.
- GILLETTE, C.P., 1912: *Diabrotica virgifera* Lec as a cornrootworm.- J. Econ Entomol., Vol. 5, 364-366.
- HATALÁNÉ ZSELLÉR, I., G. RIPKA, 2001: A kukoricabogár biológija, életciklusa (Biology and life-cycle of the Western corn rootworm). Gyakorlati Agroforum 12, (5) 7-8.
- KOGAN, M. and E.F. ORTMAN, 1978: Antixenosis - a new term proposed to define Painter's „nonpreference“ modality of resistance. Bulletin of the Entomological Society of America 24 (2):175-176.

KRYSAN J. L. and T.A. MILLER, 1986: Methods for study of pest *Diabrotica*. Springer-Verlag, New York, USA.

PAINTER, R.H., 1951: Insect Resistance in Crop Plants. University of Kansas Press, Lawrence, KS.

RIPKA, G., 2004: Beszámoló az amerikai kukoricabogárról rendezett 10. IWGO *Diabrotica* tanácskozásról (Report on the 10th IWGO meeting on western corn rootworm). *Növényvédelem*. 40 (7), 372-373.

SIVCEV, I. and I. TOMASEV, 2002: Distribution of *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte in Serbia in 1998.

*Acta Phytopathologica et Entomologica Hungarica* 37, 145-153.



# Einfluss chemischer Beizmittel auf die Keimfähigkeit von Getreidesaatgut

G. MÜLLER

## Einleitung

Aus früheren Untersuchungen ist bekannt, dass chemische Beizmittel die Keimfähigkeit nicht nur verbessern, sondern gelegentlich auch phytotoxische Nebenwirkungen entfalten können (JAHN 1991, MÜLLER 1995, 1996, 1998, 2006). Dabei war immer wieder festzustellen, dass insbesondere die Formulierung der Beizen für die Nebenwirkung verantwortlich ist. Beizmittel werden entweder als lösungsmittelhaltige Feuchtbeizen oder als wasserlösliche Suspensionskonzentrate angeboten.

Der Nutzen chemischer Beizmittel, in der richtigen Aufwandmenge dosiert, für den Feldaufgang und die frühe Entwicklung der Bestände steht außer Frage, da sie Keimlinge vor den meisten Krankheitserregern schützen. Durch die Beseitigung oder Unterdrückung der samenbürtigen Krankheitserreger ist bei erkrankten Partien meistens eine deutliche Verbesserung der Keimfähigkeit zu erreichen.

Liegen hingegen Belastungen anderer Art, wie z.B. Auswuchs, thermische Schäden infolge von Trocknung oder Selbsterwärmung sowie mechanische Beschädigungen vor, so ist damit zu rechnen, dass jeder weitere Stress dazu führt, dass die Keimfähigkeit zurückgeht. Für den Praktiker als auch für den mit der amtlichen Anerkennung betrauten Personenkreis ist es wichtig zu wissen, ob und in welchem Umfang die angebotenen Beizmittel die Keimfähigkeit beeinflussen können, um im Bedarfsfall bei vorgeschädigten Partien Mittel mit geringer phytotoxischer Nebenwirkung auszuwählen.

## Material und Methoden

In einem ersten Versuch wählten wir offensichtlich mechanisch geschädigte Saatgutpartien aus dem amtlichen Anerkennungsverfahren aus, beizten diese mit zugelassenen Mitteln in der vom

Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit vorgeschriebenen Aufwandmenge und bestimmten die Keimfähigkeit. Zur Verfügung standen drei Sorten Sommergerste und eine Sorte Wintergerste jeweils eines Produzenten. Die Ergebnisse sind somit als unabhängige Wiederholungen zu werten. Damit eröffnet sich die Möglichkeit, die Mittelwerte einfach varianzanalytisch auf Unterschiede zu prüfen und im Fall von Signifikanz die Behandlung mit der unbehandelten Variante zu vergleichen (multipler Mittelwertsvergleich nach DUNNETT).

Im Jahr 2005 untersuchten wir die Sommergerstensorten Braemar mit 4,8%, Carafe mit 4,4% und Barke mit 2,6% keimverletzten Karyopsen.

Im folgenden Jahr stand uns Wintergerste Cinderella mit 3,0% keimverletzten Karyopsen zu Verfügung.

Um den Zusammenhang von mechanischen Beschädigungen und chemischer Beizung noch eingehender untersuchen zu können, initiierten wir einen Modellversuch mit den Winterformen von Weizen, Gerste, Roggen und Triticale. Dazu wurden jeweils zwei Saatgutproben einer Fruchtart mittels eines Einzelähndreschers in unterschiedlichem Umfang mechanisch geschädigt (Beschädigungsstufen 1 bis 4), chemisch gebeizt und die Keimfähigkeit bestimmt. Der Einzelähndrescher besteht aus einem kleinen Dreschwerk und einer Absaugeinrichtung. Die unterschiedlichen mechanischen Beschädigungen lassen sich durch die Höhe der Dreschtrommelumgangsgeschwindigkeit oder der Verweildauer des Druschgutes im Dreschwerk setzen. Es war beabsichtigt, zwei Sorten mit unterschiedlichen Ausgangsqualitäten mechanisch zu schädigen. Die Keimfähigkeit bestimmten wir nach den ISTA Vorschriften in Filterpapierrollen bei 20°C (ISTA 2006).

Die Mittelwerte wurden varianzanalytisch als zweifaktorielle Anlage ohne Messwertwiederholung verrechnet. Bei signifikanten Unterschieden war dann der multiple Mittelwertsvergleich nach Dunnett anwendbar.

## Ergebnisse und Diskussion

Die Ergebnisse des ersten Versuches (Tabelle 1) zeigten, dass das ungebeizte Saatgut aller vier Sorten infolge mechanischer Beschädigungen unbefriedigend keimte. Damit waren die für die amtliche Anerkennung erforderlichen 92% Keimfähigkeit nicht mehr zu erreichen (RUTZ 2006). Die Saatgutpartien enthielten 2,6% bis zu 4,8% mechanisch geschädigte Karyopsen, die bei der Beschaffenheitsprüfung mit bloßem Auge zu erkennen waren. Dieser relativ hohe Anteil visuell sichtbarer Beschädigungen verbunden mit feinsten Haarrissen beeinträchtigte die Saatgutqualität merklich. Das Saatgut war somit für unsere Untersuchungen mit unterschiedlichen Beizmitteln bestens geeignet. Bei allen verwendeten Sorten führte die Flüssigbeize Abavit UF zu einem starken Rückgang der Keimfähigkeit um 2 bis 10%. Dabei waren die Mittelwertsdifferenzen bei den Sorten Braemar und Carafe zwar sichtbar, statistisch jedoch nicht gesichert. Somit wirkte von den vier verwendeten Beizmitteln Abavit UF am stärksten phytotoxisch. Verglichen mit den ungebeizten Varianten ging im Mittel die Keimfähigkeit um 6% zurück. Zardex G und Rubin waren als Beizmittel für mechanisch vorgeschädigte Saatgutproben wesentlich verträglicher, so dass die Keimfähigkeit durch die Beizung nur um jeweils 2% zurückging. Lediglich die mit Solitär gebeizten Proben keimten im Mittel ähnlich hoch wie die ungebeizten Varianten.

In Modellversuchen stuften wir die mechanischen Beanspruchungen der

**Autor:** Dr. Günter MÜLLER, Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Referat Saatgut, Naumberger Straße 98, D-07743 JENA, g.mueller@jena.tll.de

Tabelle 1: Keimfähigkeit von Gerste aus der amtlichen Anerkennung 2005/2006

Beizmittel	Keimfähigkeit (%)				Mittel -
	Braemar n=3	Carafe n=4	Barke n=7	Cinderella n=5	
ungebeizt	84	74	82	86	82
Abavit UF	82	70	74	76	76
Zardex G	84	72	80	83	80
Rubin	85	71	82	84	81
Solitär	84	75	83	87	82
GD Dunnett a=5 %	ns	ns	4	6	-

Getreideproben durch unterschiedliche Verweildauer im Dreschwerk und veränderten Dreschtrummelumfangesgeschwindigkeiten ab. Die Ergebnisse verdeutlichen, dass mit zunehmenden mechanischen Beschädigungen (Tabelle 2, Beschädigungsstufe 1 bis 4) die Proben statistisch gesichert schlechter keimten. Dabei zeigten sich auch deutliche Unterschiede in der Empfindlichkeit gegenüber mechanischen Beanspruchungen zwischen den vier Fruchtarten. Die Empfindlichkeit nahm in der Reihenfolge Gerste, Weizen, Triticale, Roggen merklich zu.

Bekanntlich sind Gerstekaryopsen durch die schützende Spelze besonders widerstandsfähig und Roggenkaryopsen durch den erhaben liegenden Embryo besonders empfindlich gegenüber mechanischen Beanspruchungen. Eine leichte mechanische Belastung (Tabelle 2, Stufe 1) beeinträchtigte die Gerste

beider Sorten nicht negativ, sondern führte im Gegenteil zu einem schwachen, statistisch nicht gesicherten Anstieg der Keimfähigkeit.

Nicht jedes Beizmittel ist gleichermaßen für alle Getreidearten zugelassen. So ist Abavit UF nicht für Triticale und Arena C nicht für Gerste geeignet. Zardex G und Solitär hingegen dürfen als reine Gerstenbeizmittel nicht für andere Getreidearten verwendet werden. Wie Tabelle 3 zu entnehmen ist, beeinträchtigten die verwendeten Beizmittel die Keimfähigkeit der vorgeschädigten Saatgutproben meistens negativ. Allerdings war die Wirkung der einzelnen Beizmittel recht unterschiedlich. So fiel die Keimfähigkeit bei Verwendung von Abavit UF im Vergleich zur ungebeizten Variante besonders stark ab. Dabei spielte es offensichtlich keine Rolle, ob es sich um die qualitativ bessere oder schlechtere Ausgangsware gehandelt hat

(Vergleich der Sorten). Verglichen mit den ungebeizten Proben sind für Abavit UF in allen Fällen die Mittelwertsdifferenzen signifikant. Auch die mit Rubin behandelten Proben keimten in einigen Fällen auffallend schlecht. Dies betraf Winterweizen der Sorte Cubus sowie die beiden verwendeten Roggensorten Treviso und Fernando.

Abweichend von den Ergebnissen bei Gerste, Weizen und Roggen verursachten die für Triticale zugelassenen Beizmittel keinen oder einen geringen, statistisch nicht gesicherten Abfall in der Keimfähigkeit.

Tabelle 4 enthält die Veränderung der Keimfähigkeit durch Anwendung chemischer Beizmittel. Bei Verwendung von Abavit UF keimten die gebeizten Varianten um 8 bis 11% schlechter als die ungebeizte Ausgangsware. Wurde der Roggen mit Rubin gebeizt, so ging die Keimfähigkeit des Saatgutes sogar um bis zu 12% zurück. Da beide Roggensorten gleichermaßen betroffen waren, ist dieser negative Beizeffekt durch das Rubin als recht sicher einzustufen.

Die anderen Beizmittel bewirkten in den meisten Fällen ebenfalls, dass Gerste-, Weizen-, Roggen- und Triticalesaatgut, wenn auch mit geringeren Werten, schlechter keimte. Ein positiver Beizeffekt, der bei pilzlich erkranktem

Tabelle 2: Einfluss mechanischer Beschädigungen auf die Keimfähigkeit von Getreidesaatgut (Modellversuch)

Beschädigungsstufe	Keimfähigkeit (%)							
	Gerste		Weizen		Roggen		Triticale	
	Lomerit	Naomie	Bussard	Cubus	Treviso	Fernando	Talentro	Benetto
0	83	94	96	88	88	78	92	92
1	84	95	93	82	80	66	90	88
2	81	93	90	75	78	61	86	77
3	81	91	86	72	66	32	82	65
4	77	91	86	69	48	13	66	41
GD Dunnett a=5 %	6	4	3	4	6	6	4	8

Tabelle 3: Einfluss chemischer Beizmittel auf die Keimfähigkeit von mechanisch geschädigtem Getreidesaatgut (Modellversuch)

Beizmittel	Keimfähigkeit (%)							
	Gerste		Weizen		Roggen		Triticale	
	Lomerit	Naomie	Bussard	Cubus	Treviso	Fernando	Talentro	Benetto
ungebeizt	85	95	93	82	80	55	84	73
Abavit UF	75	86	82	73	68	47	-	-
Landor CT	-	-	-	-	-	-	83	74
Arena C	-	-	93	79	73	53	83	74
Zardex G	80	93	-	-	-	-	-	-
Rubin	80	95	91	77	68	46	81	69
Solitär	84	96	-	-	-	-	-	-
Legat	-	-	92	75	-	-	-	-
GD Dunnett a=5 %	6	3	3	4	5	5	ns	ns

**Tabelle 4: Veränderung der Keimfähigkeit durch chemische Beizung (Modellversuch - Vergleich mit der ungebeizten Variante)**

Beizmittel	Veränderungen der Keimfähigkeit* (%)			
	Gerste	Weizen	Roggen	Triticale
Abavit UF	-9 bis -10	-9 bis -11	-8 bis -10	
Landor CT				+1 bis -1
Arena C		0 bis -2	-2 bis -6	+1 bis -1
Zardex G	-2 bis -5			
Rubin	0 bis -5	-2 bis -4	-10 bis -12	-3 bis -4
Solitär	+1 bis -1			
Legat		-1 bis -7		

\*- entspricht Verschlechterung der Keimfähigkeitsrückgang; + entspricht Verbesserung der Keimfähigkeit

Saatgut fast immer zu erwarten ist, trat nicht ein.

Bei der Anwendung der lösungsmittelhaltigen Feuchtbeize Zardex G zu Gerste verringerte sich die Keimfähigkeit nur um bis zu 5%, ein Beweis dafür, dass Feuchtbeizen auf Grund ihres Lösungsmittels nicht generell als besonders phytotoxisch einzustufen sind.

Die Ergebnisse zeigen, dass chemische Beizmittel die Keimfähigkeit von mechanisch geschädigtem Saatgut sehr häufig negativ beeinflussen, wobei zum Teil große Unterschiede zwischen den Beizmitteln existieren. Diese Erkenntnis ist von Bedeutung für die amtliche Anerkennung von Saatgutpartien, die (verursacht durch mechanische Beschädigungen im ungebeizten Zustand) die vorgeschriebene Keimfähigkeitsnorm nach Saatgutverordnung gerade noch so erreichen. In diesen Fällen ist damit zu rechnen, dass die in den Verkehr gebrachte chemisch gebeizte Ware durch die zusätzliche phytotoxische Wirkung der Beizmittel mit einem Wert unter der Norm keimen wird. Um diese Gefahr zu verringern und den negativen Effekt auf die Keimfähigkeit nicht zu hoch ausfallen zu lassen, sollte mechanisch geschädigte Ware nicht mit der Feuchtbeize Abavit UF und im Fall

von Roggen auch nicht mit dem Suspensionskonzentrat Rubin gebeizt werden. Je nach Fruchtart und Zulassung durch das Bundesamt für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit sollten in diesen Fällen Beizmittel mit einer geringen phytotoxischen Nebenwirkung ausgewählt werden.

### Schlussfolgerungen

1. Mechanisch geschädigtes Saatgut von Getreide ist abhängig von Art und Umfang der Beschädigung in der Keimfähigkeit beeinträchtigt.
2. Bei Anwendung chemischer Beizmittel ist, hervorgerufen durch eine Verstärkung der Stresssituation, mit einer merklichen Abnahme der Keimfähigkeit zu rechnen. Dieser Rückgang belief sich auf bis zu 5% bei Anwendung von Arena C, Zardex G, Rubin (außer bei Roggen) und Legat. Das nur für Gerste zulässige Solitär beeinträchtigte in den Versuchen die Keimfähigkeit nur unwesentlich.
3. Die Feuchtbeize Abavit UF hingegen erwies sich als stark phytotoxisch gegenüber mechanisch geschädigtem Getreidesaatgut. Die Keimfähigkeit

verringerte sich um 10%, wenn dieses Beizmittel verwendet wurde. Bei Roggen verursachte Rubin einen ähnlich starken Rückgang.

4. Aus den oben genannten Gründen sollte mechanisch geschädigtes Getreidesaatgut nicht mit Abavit UF und lediglich Roggen nicht mit Rubin gebeizt werden.
5. Bei der amtlichen Anerkennung von Getreidesaatgut ist zu berücksichtigen, dass durch die Anwendung chemischer Beizmittel die ungebeizt auf Beschaffenheit geprüften Saatgutpartien in bestimmten Fällen auch schlechter keimen können.

### Literatur

- ISTA, 2006: International Rules for Seed Testing.
- JAHN, P.E., 1991: Untersuchungen zur Beurteilung der Beizqualität bei Getreidesaatgut. Dissertation. Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Georg-August-Universität Göttingen von 1991.
- MÜLLER, G., 1995: Einfluss der Beizintensität auf die Keimfähigkeit und das Keimpflanzenwachstum von Winterweizen. 107. VDLUFA-Kongress in Garmisch-Partenkirchen, Kurzfassung der Vorträge, 237.
- MÜLLER, G., 1996: Untersuchungen zum Einfluss chemischer Beizmittel auf die Keimfähigkeit und das Keimpflanzenwachstum von Winterroggen. 108. VDLUFA-Kongress in Trier, Kurzfassung der Vorträge, 27.
- MÜLLER, G., 1998: Einfluss chemischer Beizmittel auf die Keimfähigkeit und das Keimpflanzenwachstum von Sommergerste. 110. VDLUFA-Kongress in Gießen, Kurzfassung der Vorträge, 186.
- MÜLLER, G., 2006: Untersuchungen zum Einfluss chemischer Beizmittel auf die Keimfähigkeit von auswuchsgeschädigtem Weizensaatgut. Thüringer Landesanstalt für Landwirtschaft, Untersuchungsbericht 2004/2005, Schriftenreihe Heft 11/2006.
- RUTZ, H.W., 2006: Sorten- und Saatgutrecht. 11. Auflage. AgriMedia-Verlag.

# Saatgutbehandlungen an Gemüsesaatgut

H.-J. SCHÄRER

Saatgutbehandlung bedeutet den Gebrauch und die Applikation biologischer, physikalischer oder chemischer Mittel, Methoden oder Techniken direkt am Saatgut, um die daraus hervorgehenden Pflanzen vor samen- oder bodenbürtigen Schaderregern zu schützen. Der Einsatz/die Verwendung von chemisch-synthetischen Mitteln ist im biologischen Anbau unerwünscht und nicht erlaubt. Ohne angemessene Kontrolle können aber samen- und bodenbürtige Pathogene verheerende Konsequenzen für die Pflanzenproduktion haben.

Seit 2004 ist es im biologischen Landbau Pflicht, biologisch vermehrtes Saatgut zu verwenden. Grundsätzlich soll unbehandeltes Saatgut zur Verwendung kommen. Zur Behandlung von samenbürtigen Krankheitserregern sind bisher nur ganz wenige Produkte, entweder auf Naturstoffbasis oder als Biocontrol-Organismen, zugelassen. Weil auch für die Behandlung gegen Pathogene an den wachsenden Pflanzen nur relativ wenige, z.T. nur teilweise wirkende Produkte zugelassen und einsetzbar sind, kommt der Saatgutgesundheit und damit einem optimalen Start einer Kultur besondere Bedeutung zu. Bereits bei der Produktion und Vermehrung von Saatgut muss besonderes Augenmerk auf Gesundheit der Mutterpflanzen gelegt werden, dazu gehören Strategien wie Entkommen und Vermeiden, sowie Feldkontrollen und Zertifizierung. Ist das Saatgut dann geerntet, werden sichere, schnelle und verlässliche Diagnosemethoden benötigt, mit denen einwandfrei festgestellt werden kann, ob samenübertragbare Krankheitserreger in einem Posten vorhanden sind oder nicht. Erst dann kommen Behandlungen am Saatgut ins Spiel, als nachträgliche Möglichkeiten zur Verbesserung des Gesundheitszustandes eines Saatgutpostens.

Verschiedene, von der EU geförderte Projekte zur Verbesserung der Saatgutgesundheit im Gemüse konnten in den letz-

ten Jahren neue Mittel oder Techniken der Saatgutbehandlung erforschen und bearbeiten. Daraus haben sich deutliche Verbesserungen der Möglichkeiten zur Saatgutbehandlung im biologischen Landbau ergeben. Der Fokus dieser Projekte lag bei physikalischen Methoden, einerseits wegen dem primären Ziel Desinfektion und Gesundheitsbehandlung und andererseits wegen Rückstandsfragen und Fragen der Zulassung.

Bei Saatgutbehandlungen kann unterschieden werden zwischen Behandlungen mit dem Ziel der Pathogenbekämpfung und Behandlungen zur technischen Verbesserung von Saatgut. Zum letzteren werden mechanische Reinigung, Separierung, Kalibrierung, physikalische Veränderungen wie Pelletierung oder Inkrustierung und auch physiologische Behandlungen wie Stratifizieren, Priming und Vorkeimen gezählt. Auch bei diesen Behandlungen werden oft Effekte auf die Gesundheit, resp. den Erregerbesatz festgestellt. Bei direkten Gesundheits- oder Pflanzenschutzbehandlungen kann zwischen physikalischen (z.B. Warmwasser, Dampf, Elektronen, etc.), chemischen oder biologischen Behandlungen unterschieden werden. Bei biologischen Behandlungen muss zwischen Produkten pflanzlichen oder tierischen Ursprungs (z.B. Pflanzenextrakte, essentielle Öle, etc.) und Biocontrol-Organismen (z.B. *Trichoderma*, *Bacillus*, *Pseudomonas*, etc.) unterschieden werden.

In verschiedenen Untersuchungen und Experimenten an unserem Institut wurden Mittel und Methoden zur Gesundheitsbehandlung von Saatgut an ausgewählten Gemüsearten geprüft. Nach einer solchen Behandlung muss einerseits die Wirkung auf den Pathogenbesatz überprüft werden und es muss kontrolliert werden, ob die Keimfähigkeit und allenfalls Keimkraft des behandelten Saatgutes erhalten geblieben ist.

Bei Feldsalat wurden in erster Linie Desinfektionsmethoden untersucht. Zur

Prüfung kamen Dampfbehandlung, Essig und elektrochemisch aktiviertes Wasser. Als Referenz diente die Warmwasserbehandlung. An einem Saatgutposten mit 75% Keimfähigkeit, was für Feldsalat nicht besonders hoch ist, wurden deutliche Steigerungen der Keimfähigkeit nach verschiedenen Varianten der Dampfbehandlung beobachtet. Gleichzeitig wurde insbesondere die samenbürtige Phoma vollständig eliminiert. Daraus wird geschlossen, dass für Feldsalat mit der Dampfbehandlung eine Methode zur Verfügung steht, die eine gute bis sehr gute Wirkung gegen die wichtigsten samenbürtigen Krankheitserreger erbringen und gleichzeitig die Keimfähigkeit positiv beeinflussen kann. Ob die Dampfbehandlung auch gegen *Acidovorax valerianellae* wirkt, muss in weiteren Untersuchungen geprüft werden, damit der Ausbreitung dieses neuen Schaderregers vorgebeugt werden kann.

Für Spinat wurden sowohl Desinfektionsmethoden wie auch die Anwendung von Biocontrol-Organismen untersucht. Mit Desinfektionsmethoden und -Mitteln wie z.B. Essig, konnten sehr gute Wirkungen erreicht werden, die pilzliche Flora auf dem Saatgut wurde grösstenteils eliminiert. Das Aufbringen von Biocontrol-Organismen (BCO) auf Spinat Saatgut stellt hohe Anforderungen, denn diese müssen in genügend hoher Zahl am Saatkorn haften bleiben, er muss überleben bis der Samen im Boden ausgebracht ist, und dann sofort aktiviert werden, damit er antagonistische Wirkung entfalten kann. In den bisherigen Versuchen konnten wir ein Potenzial gewisser BCO erkennen, eine wirklich statistisch signifikante Verbesserung von Felddauflauf, Bestandesetablierung oder Ertrag wurde jedoch mit den geprüften Organismen noch nicht beobachtet.

Da bei Spinat neben samenbürtigen Schaderregern auch bodenbürtige Krankheiten von großer Bedeutung sind, stehen Behandlungen mit Biocontrol-

**Autor:** Dipl.-Ing.agr. Hans-Jakob SCHÄRER, Forschungsinstitut für biologischen Landbau, Phytopathologie, Ackerstraße, CH-5070 FRICK, hans-jakob.schaerer@fibl.com

Organismen im Vordergrund. In nächsten Versuchsserien wird untersucht werden, ob und wie Desinfektionsmethoden mit Biocontrol-Organismen sinnvoll kombiniert werden können um samenbürtige Blattkrankheiten zu verhindern und eine optimale Bestandesetablierung zu erreichen.

Bei der Qualitätsverbesserung von Nischenkulturen konnte für Pastinaken eine deutliche Steigerung der Keimfähigkeit nach Tauch-Behandlungen mit Kuh-Urin festgestellt werden. Tauchbehandlungen mit dem Desinfektionsmittel Jet-5 (organische Säuren) erbrachten variable Resultate, sowohl Zunahme wie Abnahme der Keimfähigkeit waren die Folge.

### Schlussfolgerungen

Nach den sehr positiven Ergebnissen bei Getreidearten zeigt sich, dass auch bei Gemüsesaatgut die Dampfbehandlung sehr vielversprechend ist und ein relativ breites Anwendungsfeld bietet.

Tauchbehandlungen von Saatgut in wässrigen Lösungen (Warmwasser, Essig etc.) können durchaus gute bis sehr gute Wirkung gegen Pilze erbringen, sie haben aber den Nachteil, dass das Saatgut zurückgetrocknet werden muss, was einen zusätzlichen Aufwand an Arbeit, Energie und Kosten verursacht.

Die Schwierigkeiten beim Aufbringen von Biocontrol-Organismen auf Saatgut sind noch nicht vollständig gelöst.

Wenn die (Über-) Lebensfähigkeit am Saatgut von der Behandlung bis zur Saat sichergestellt werden kann und sich die Organismen sofort in der Umgebung des Samens etablieren können, bieten sich hier effiziente Möglichkeiten zum Schutz von Keimlingen und Pflanzen vor boden- und samenbürtiger Krankheit.

Je nach Gemüseart werden unterschiedliche Methoden oder Mittel im Vordergrund stehen. Einzelne Behandlungen sind sehr wirkungsvoll bei ganz speziellen Samenart-Pathogen-Kombinationen.

Für andere Arten kommen dieselben Methoden oder Mittel nicht in Frage.

Die Technik und Technologie von Behandlungen sind schon fast eine Kunst. Spezialisierte Firmen bieten aber solche Behandlungen an und werden die Bemühungen der Züchter und Vermehrer, welche im Biosektor nun auch vermehrt in Samenbehandlung investieren, unterstützen und komplettieren.

Für die weitere Forschung mit Behandlungen an Gemüsesaatgut ist die Auswahl der Saatgutposten von großer Wichtigkeit. Nur relativ schlechte Posten eignen sich für solche Versuche, diese Posten werden aber von Saatgut-Firmen meist sofort aus dem Verkehr gezogen.

Mit gezielten Versuchen in Problemkulturen werden wir in der Forschung weiterhin versuchen, die Bemühungen der Züchter und Vermehrer bei der Bereitstellung von gesundem, qualitativ hochstehendem Bio-Saatgut zu unterstützen.

# Vorsaatbehandlung bei Wiesenrispe (*Poa pratensis* L.) mit Ascorbinsäure

C. SANDRITTER und M. KRUSE

## Einleitung

Neben der Verwendung im landwirtschaftlichen Bereich hat die Wiesenrispe eine große Bedeutung in Mischungen für nichtlandwirtschaftliche Nutzungen wie zum Beispiel für Sportrasen. Die Wiesenrispe zeichnet sich durch hohe Trittfestigkeit, Strapazierfähigkeit, Belastbarkeit, Weidefestigkeit und Winterhärte aus. Gleichzeitig zeigt sie aber ein sehr nachteiliges Keimverhalten, da sie im Vergleich zu anderen Grasarten, die eine vollständige Keimung innerhalb von 14 Tagen erreichen, mit 28 Tagen Keimdauer eine langsame und verzögerte Keimung zeigt. Zusätzlich kommt noch eine langsame Jugendentwicklung hinzu.

Durch Vorsaatbehandlung (Priming) von Saatgut soll eine Beschleunigung der Keimung erreicht werden. Die Behandlung besteht aus einer Einquellung des Saatgutes in Wasser (Hydropriming) oder osmotischen Lösungen (Osmo-priming), denen Wirkstoffe zugesetzt werden können. Durch das Einquellen beginnen erste Stoffwechselprozesse der Keimung, die u. a. der Reparatur von Schäden an DNA und Membransystem dienen. Das Hinzufügen von Vitaminen soll die Wirkung verstärken. Priming wird bereits standardmäßig bei Gemüsesaatgut angewendet.

Ascorbat, das Salz der Ascorbinsäure, agiert im Zellmetabolismus als Elektronen-Donor und Ascorbinsäure-Freie-Radikale (AFR) werden kontinuierlich produziert. AFR können durch AFR-Reduktase wieder zu Ascorbat umgewandelt werden oder es bildet sich durch Disproportionierung von AFR Dehydroascorbinsäure (dehydroascorbic acid = DHA). DHA ist die oxidierte Form von Ascorbinsäure. Die Reduktion von DHA spielt v. a. in einem frühen Stadium der Keimung eine wichtige Rolle. Der trockene Same speichert kein Ascorbat, sondern DHA sowie einige DHA-

reduzierende Proteine. DHA-Reduktion dient der Produktion von Ascorbat für metabolische Prozesse der frühen Keimung, denn erst nach 30-40 h beginnt die Neusynthese von Ascorbat.

Wenn zu Beginn der Keimung die DHA-Reduktion limitierend für die Stoffwechselaktivität wirken würde, dann könnte nach Zugabe externer Ascorbinsäure die Keimung früher erfolgen. BASRA et al. (2006) beobachteten bei Reis nach einer Behandlung mit 10 mg/l Ascorbinsäure eine Verkürzung der Zeit bis zum Beginn der Keimung, sowie geringere MGT und  $T_{50}$ .

In dieser Arbeit sollte deshalb untersucht werden, ob durch die Vorsaatbehandlung mittels Ascorbinsäure bei der Wiesenrispe eine ähnliche Wirkung wie bei Reis erzielt werden kann.

## Material und Methoden

Es wurde Saatgut von je zwei Partien der Sorten Lincolnshire und Cocktail verwendet. Für die Behandlung wurden jeweils 200 Samen in Lösungen von 5, 10 und 20 mg/l Ascorbinsäure 24 h oder 48 h lang bei Raumtemperatur eingequollt. Ein Teil der eingequollenen Samen wurde dann direkt in einen Keimversuch überführt, ein anderer Teil wurde in einem Umluft-Trockenschrank bei 30 °C getrocknet, zwei Wochen lang bei 6 °C gelagert und dann in den Keimversuch überführt. Die Keimversuche wurden mit 2\*100 Samen in Stapelboxen auf Keimpapier angesetzt und bei 10/30 °C im Licht eingekeimt. Täglich wurden die Keimlinge gezählt, deren Keimwurzel mindestens 1 mm lang war. Nach 28 Tagen wurden tote und frische Samen sowie normale und anomale Keimlinge nach den ISTA-Regeln bestimmt. Als Parameter für die Keimgeschwindigkeit wurden der Keimbeginn und die  $T_{50}$  und die  $T_{75}$  bestimmt. Als Kontrolle dienten zum einen unbehandelte Samen, und zum anderen Samen, die in destilliertem Was-

ser (0 mg/l Ascorbinsäure) eingequollen waren, um einen Effekt der Ascorbinsäure von dem Effekt des Einquellens in Wasser trennen zu können.

## Ergebnisse

Die Ergebnisse der Keimfähigkeitsbestimmungen nach den verschiedenen Behandlungen sind zunächst gemittelt über die vier Partien in *Tabelle 1* dargestellt. Die mit 10 mg/l Ascorbinsäure behandelten Samen (nicht getrocknet) beginnen danach am frühesten mit der Keimung, die Unterschiede zu den Behandlungen mit 0 mg/l und 5 mg/l (nicht getrocknet) sind jedoch nicht signifikant. Bis zur  $T_{75}$  wird der Abstand zwischen den Behandlungen 10 mg/l (nicht getrocknet) und 0 mg/l (nicht getrocknet) zwar größer, aber der Unterschied bleibt nicht signifikant. Die Behandlung 10 mg/l (nicht getrocknet) zeigt in allen Parametern eine signifikant schnellere Keimung als die Behandlung 10 mg/l (getrocknet). Signifikant schneller als die unbehandelte Kontrolle ist bei allen drei Parametern nur die Behandlung 10 mg/l (nicht getrocknet) und beim Parameter  $T_{50}$  zusätzlich auch noch die Behandlungen 0 mg/l und 5 mg/l (nicht getrocknet). Die fehlenden Signifikanzen ergeben sich aus stark partiespezifischen Effekten der Behandlungen, die in *Tabelle 2* dargestellt sind.

Bei Lincolnshire-2 erreicht die Behandlung 10 mg/l (nicht getrocknet) eine signifikant kürzere  $T_{50}$  als die unbehandelte Kontrolle und die Behandlung 0 mg/l (getrocknet). Auch erreicht die Behandlung 10 mg/l (nicht getrocknet) am frühesten die  $T_{75}$ , die am spätesten bei der Behandlung 0 mg/l (getrocknet) erreicht wird. Für die Parameter Keimbeginn und  $T_{50}$  ergab sich kein signifikanter Effekt der Ascorbinsäure im Vergleich zur Einquellung in Wasser. Jedoch erreichten die mit Ascorbinsäure behandelten Samen die  $T_{75}$  2,5 Tage signifikant früher (*Abbildung 1* und *Tabelle 2*).

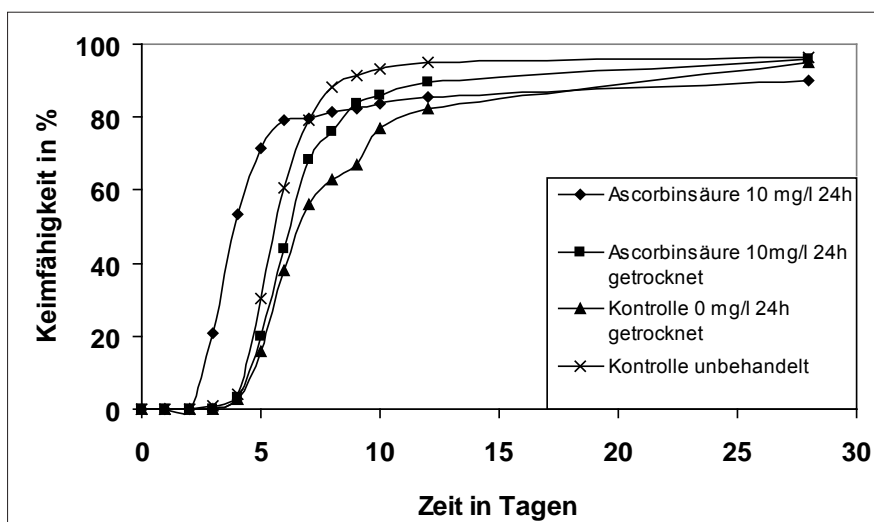
**Autoren:** Christiane SANDRITTER und Prof. Dr. Michael KRUSE, Universität Hohenheim, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART, sandritt@uni-hohenheim.de

**Tabelle 1: Keimbeginn,  $T_{50}$  und  $T_{75}$  der Behandlungen gemittelt über die Sorten und Partien**

Behandlung	Keimbeginn (in Tagen)	$T_{50}$ (in Tagen)	$T_{75}$ (in Tagen)
Kontrolle	4,5 <sup>C</sup>	8 <sup>C</sup>	10,25 <sup>C</sup>
0 mg/l, 24 h, getrocknet	3,5 <sup>C,D</sup>	6,5 <sup>D,E</sup>	9 <sup>C,D</sup>
5 mg/l, 24 h, getrocknet	4,5 <sup>C</sup>	7,25 <sup>C,D</sup>	8,75 <sup>C,D</sup>
5 mg/l, 24 h, nicht getrocknet	3,75 <sup>C,D</sup>	6,5 <sup>D,E</sup>	9,75 <sup>C</sup>
20 mg/l, 24 h, getrocknet	6,25 <sup>B</sup>	11,5 <sup>B</sup>	13 <sup>B</sup>
10 mg/l, 24 h, getrocknet	4,5 <sup>C</sup>	7,5 <sup>C,D</sup>	10 <sup>C</sup>
10 mg/l, 24 h, nicht getrocknet	3,25 <sup>D</sup>	5,5 <sup>E</sup>	7,25 <sup>D</sup>
10 mg/l, 48 h, nicht getrocknet	8 <sup>A</sup>	13,5 <sup>A</sup>	16,5 <sup>A</sup>

**Tabelle 2: Keimbeginn,  $T_{50}$  und  $T_{75}$  der verschiedenen Sorten, Partien und Behandlungen**

	Keimbeginn (in Tagen)	$T_{50}$ (in Tagen)	$T_{75}$ (in Tagen)
Lincolnshire-1			
- Kontrolle	3,25 <sup>BC</sup>	5,25 <sup>C</sup>	6,25 <sup>C</sup>
- 0 mg/l getrocknet	2 <sup>D</sup>	3 <sup>E</sup>	4 <sup>E</sup>
- 5 mg/l getrocknet	3 <sup>C</sup>	4 <sup>D</sup>	5 <sup>D</sup>
- 5 mg/l nicht getrocknet	2 <sup>D</sup>	3,5 <sup>DE</sup>	5 <sup>D</sup>
- 20 mg/l getrocknet	4 <sup>B</sup>	7 <sup>B</sup>	8 <sup>B</sup>
- 10 mg/l 24 h getrocknet	3 <sup>C</sup>	5 <sup>C</sup>	8,5 <sup>B</sup>
- 10 mg/l 48 h getrocknet	5,5 <sup>A</sup>	8 <sup>A</sup>	10 <sup>A</sup>
Lincolnshire-2			
- Kontrolle	3,25 <sup>AB</sup>	5,25 <sup>A</sup>	7 <sup>B</sup>
- 0 mg/l getrocknet	4 <sup>A</sup>	6 <sup>A</sup>	10 <sup>A</sup>
- 10 mg/l getrocknet	4 <sup>A</sup>	6 <sup>A</sup>	7,5 <sup>B</sup>
- 10 mg/l nicht getrocknet	3 <sup>B</sup>	4 <sup>B</sup>	5 <sup>C</sup>
Cocktail-1			
- Kontrolle	5,5 <sup>C</sup>	11,75 <sup>B</sup>	16 <sup>C</sup>
- 0 mg/l getrocknet	4,5 <sup>C</sup>	10 <sup>B</sup>	14,5 <sup>CD</sup>
- 5 mg/l getrocknet	6 <sup>C</sup>	10,5 <sup>B</sup>	12,5 <sup>E</sup>
- 5 mg/l nicht getrocknet	5,5 <sup>C</sup>	9,5 <sup>B</sup>	14,5 <sup>CD</sup>
- 20 mg/l getrocknet	8,5 <sup>B</sup>	16 <sup>A</sup>	18 <sup>B</sup>
- 10 mg/l 24 h getrocknet	6 <sup>C</sup>	11,5 <sup>B</sup>	14 <sup>DE</sup>
- 10 mg/l 48 h getrocknet	10,5 <sup>A</sup>	19 <sup>A</sup>	23 <sup>A</sup>
Cocktail-2			
- Kontrolle	5,75 <sup>A</sup>	9,5 <sup>A</sup>	12 <sup>A</sup>
- 0 mg/l getrocknet	4 <sup>B</sup>	7 <sup>B</sup>	7,5 <sup>C</sup>
- 10 mg/l getrocknet	5 <sup>AB</sup>	7,5 <sup>B</sup>	10 <sup>AB</sup>
- 10 mg/l nicht getrocknet	3,5 <sup>B</sup>	7 <sup>B</sup>	9,5 <sup>BC</sup>

**Abbildung 1: Keimkurven der Sorte Lincolnshire, Partie 2, mit den Behandlungen 10 mg/l, 24 h, nicht getrocknet; 10 mg/l, 24 h, getrocknet; 0 mg/l, 24 h, getrocknet; sowie unbehandelte Samen**

Bei Cocktail-1 erreichte die Behandlung 5 mg/l (getrocknet) die  $T_{75}$  2 Tage vor der Behandlung Ascorbinsäure 5 mg/l (nicht getrocknet) und 5,5 Tage vor der Behandlung 20 mg/l (getrocknet). Bei den Parametern Keimbeginn und  $T_{50}$  ist diese Behandlung nur im Vergleich zu den Behandlungen 20 mg/l (getrocknet) und 10 mg/l (48 h, getrocknet) schneller. Die Behandlung 20 mg/l (getrocknet) hat die signifikant schlechteste Keimfähigkeit sowie die signifikant höchste Anzahl an anomalen Keimlingen. Die Behandlung 20 mg/l (getrocknet) verursachte genauso wie die Behandlung 10 mg/l (48 h, getrocknet) eine Verlangsamung der Keimung ausweislich aller drei Parameters, weshalb diese beiden Behandlungen auch nur bei Lincolnshire-1 und Cocktail-1 angewendet wurden (siehe *Abbildung 2* und *Tabelle 2*).

Die Behandlungen 5 mg/l (getrocknet) und 10 mg/l (getrocknet) unterscheiden sich bei Lincolnshire-1 nicht hinsichtlich Keimbeginn; hinsichtlich  $T_{50}$  und  $T_{75}$  ist die Behandlung 5 mg/l (getrocknet) signifikant schneller (siehe *Abbildung 3* und *Tabelle 2*). Bei Cocktail-1 hingegen unterscheiden sich die beiden Behandlungen gar nicht (siehe *Abbildung 2* und *Tabelle 2*).

Bei Cocktail-2 gibt es bei Keimbeginn und  $T_{50}$  keine Unterschiede zwischen den Ascorbinsäure-Behandlungen. Allein die Behandlungen 0 mg/l (getrocknet) und 0 mg/l (nicht getrocknet) beginnen die Keimung früher als die ungetrocknete Kontrolle. Bei  $T_{50}$  sind diese drei Behandlungen schneller als die Kontrolle. Bei  $T_{75}$  ist die Kontrolle am langsamsten, zu 10 mg/l getrocknet ist aber kein signifikanter Unterschied. Die Wasserbehandlung ist am schnellsten, zur nicht getrockneten 10 mg/l Ascorbinsäure-Behandlung liegt aber kein Unterschied vor (*Abbildung 4* und *Tabelle 2*).

In den Behandlungen unterscheidet sich die Keimfähigkeit sowie die Anzahl der anomalen Keimlinge in den Sorten Lincolnshire-2 und Cocktail-2 nicht. Bei Lincolnshire-1 haben die Samen mit der Behandlung 20 mg/l die signifikant schlechteste Keimfähigkeit sowie die signifikant höchste Anzahl an anomalen Keimlingen, wobei es keinen signifikanten Unterschied zu der Behandlung Ascorbinsäure 10 mg/l 48 h gibt. Die signifikant höchste Keimfähigkeit haben

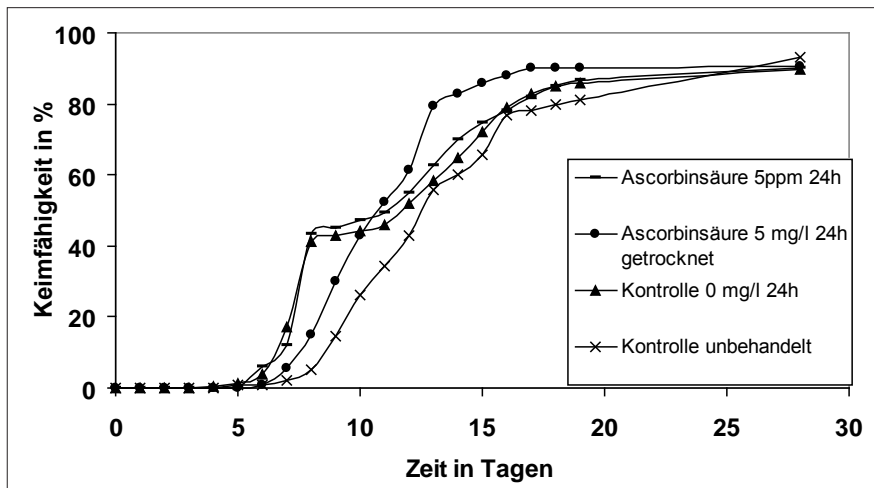


Abbildung 2: Keimkurven der Sorte Cocktail, Partie 1, mit den Behandlungen 5 mg/l, 24 h, nicht getrocknet; 5 mg/l, 24 h, getrocknet; 0 mg/l, 24 h, getrocknet; sowie unbehandelte Samen

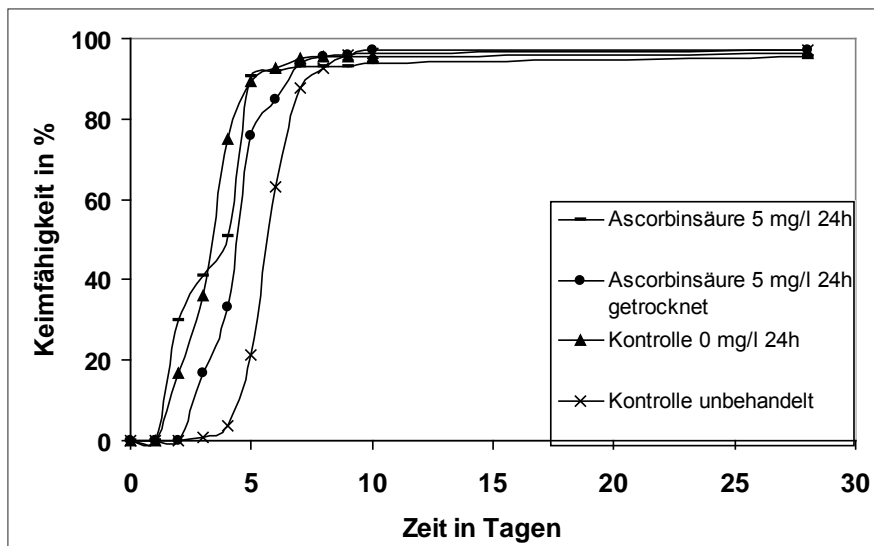


Abbildung 3: Keimkurven der Sorte Lincolnshire, Partie 1, mit den Behandlungen 5 mg/l, 24 h, nicht getrocknet; 5 mg/l, 24 h, getrocknet; 0 mg/l, 24 h, getrocknet; sowie unbehandelte Samen

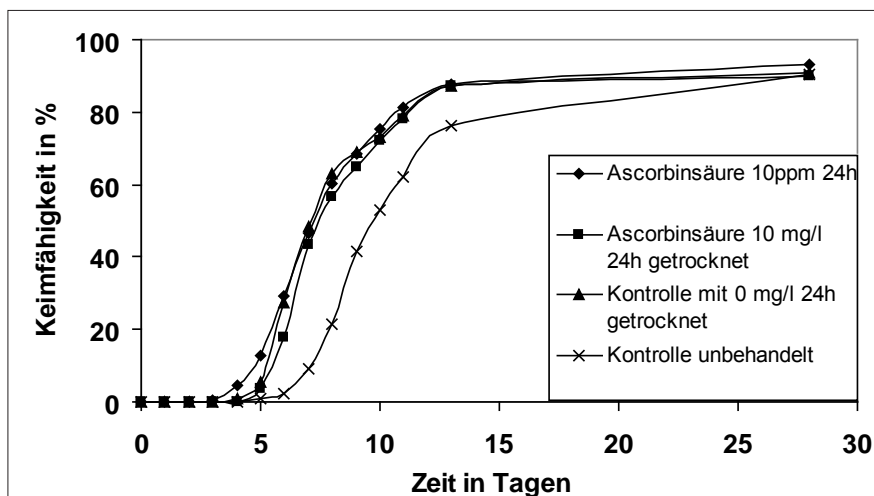


Abbildung 4: Keimkurven der Sorte Cocktail, Partie 2, mit den Behandlungen 10 mg/l, 24 h, nicht getrocknet; 10 mg/l, 24 h, getrocknet; 0 mg/l, 24 h, getrocknet; sowie unbehandelte Samen

die Kontrolle und die Behandlung mit 5 mg/l Ascorbinsäure getrocknet (nicht dargestellt).

## Diskussion

Die Partie Lincolnshire-2 zeigt, dass durch die Behandlung mit 10 mg/l Ascorbinsäure eine Beschleunigung der Keimung erfolgen kann. Durch die Trocknung wird dieser Effekt allerdings praktisch wieder aufgehoben. Im Vergleich zu nur in Wasser gequollenen Samen keimen die in Ascorbinsäure gequollenen Samen bis zur  $T_{50}$  nicht schneller, sie erreichen die  $T_{75}$  aber 2,5 Tage früher.

Die 48 h lange Behandlung mit 10 mg/l Ascorbinsäure war offensichtlich schädlich, sodass es beim Rücktrocknen zu Schädigungen kam. Die 24 h lange Behandlung mit 5 mg/l Ascorbinsäure ist zumindest für Lincolnshire-1 noch hinreichend schonend. Die  $T_{50}$  und  $T_{75}$  sind hier erst bei 10 mg/l signifikant später erreicht. Bei Cocktail-1 gibt es keinen Unterschied bei der unterschiedlichen Konzentration.

Auch diese Art der Vorbehandlung zeigt, dass die Wiesenrispe selbst innerhalb einer Sorte inhomogen reagiert. Bei einer Partie, Lincolnshire-2, konnte eine Beschleunigung erzielt werden, bei der Partie Lincolnshire-1 hingegen nicht. Bei Cocktail-1 erreichte überraschender Weise die getrocknete Variante die  $T_{75}$  früher als die nicht getrocknete Variante wobei eigentlich zu erwarten gewesen wäre, dass durch die Trocknung Schäden entstehen und die Variante deshalb langsamer keimen würde.

Da die nicht zurück getrockneten Behandlungen zwar nicht signifikant schneller sind als die mit 0 mg/l behandelten Samen, aber doch zum Teil Unterschiede zu erkennen sind, stellt sich die Frage, ob die Ascorbinsäure während der Trocknung und/oder Lagerung oxidiert wird und als Dehydroascorbinsäure vorliegt. Eventuell muss auch die Art des Trocknens überprüft werden.

## Literatur

- BASRA, S.M.A., M. FAROOQ, A. WAHID und M.B. KHAN, 2006: Rice seed invigoration by hormonal and vitamin priming. *Seed Science and Technology* 34: 753-758.
- ARRIGONI, O., 1994: Ascorbate system in plant development. *Journal of Bioenergetics and Biomembranes* 26 (4): 407-419.



# Langlebigkeit von Saatgut in der *ex situ* Genbank in Gatersleben

M. NAGEL, S. PISTRICK und A. BÖRNER

## Einleitung

Im Verlauf des 20. Jahrhunderts führten Veränderungen in der landwirtschaftlichen Praxis und die dringende Notwendigkeit der Nahrungssicherung der Weltbevölkerung zu einer steigenden Erosion der genetischen Diversität unserer Kulturpflanzen. Um diese pflanzengenetischen Ressourcen zu schützen gab u.a. N.I. VAVILOV den Startschuss für eine weltweite Konservierungsinitiative, die in der Gründung von Genbanken mündete (LININGTON und PRITSCHARD 2001).

Das Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung (IPK) in Gatersleben beherbergt heute eine der vier größten Genbanken der Welt. In dieser wurden innerhalb der vergangenen 60 Jahre insgesamt 148.128 Akzessionen aus 3.032 Arten und 890 Gattungen zusammengetragen und werden für die Zukunft *ex situ* erhalten. Allein 122.225 orthodoxe Saatgutmuster sind in den Kühlzellen zwischen 0 und -15°C eingelagert (BÖRNER 2006). Unter Verwendung dieser und weiterer Konservierungsmethoden kann ein großer Teil der pflanzengenetischen Kollektion verschiedenen Nutzern mit wissenschaftlichen, züchterischen und

kulturhistorischen Fragestellungen zur Verfügung gestellt werden.

Für die längerfristige Bewahrung der Akzessionen im Samenkühlager und zur Vermeidung häufiger Reproduktionsanbauten werden die Abgaben an die Saatgutnutzer innerhalb der ersten Jahre nach der Ernte aus dem Restsaatgutlager (Samensaal) getätigt. Diese Saatgutreserven erfahren unter den ambienten Bedingungen des Raumes (21°C, 51% relative Luftfeuchte) eine wesentlich schnellere Reduktion in der Keimfähigkeit als in den Kühlzellen. Um dem Saatgutnutzer dennoch qualitativ hochwertiges Saatgut einer Akzession zur Verfügung stellen zu können, besteht das Ziel der durchgeführten Untersuchungen in der Ermittlung der höchstmöglichen Nutzungsdauer ausgewählter Kulturpflanzenarten aus dem Samensaal.

## Material und Methoden

### Material

Insgesamt erfolgte die Prüfung von 18 verschiedenen Kulturpflanzenarten (Tabelle 1), deren Saatgut den Reproduktionsanbauten von 1980 bis 2005 entstammte. Jede geprüfte Art wurde durch fünf Akzessionen pro Erntejahrgang

repräsentiert, wobei sich die Genotypen zwischen den verschiedenen Erntejahren vollständig unterschieden. Die verwendeten Kulturpflanzenarten wurden im Anschluss innerhalb der Speicherstoffgruppen kohlehydrathaltiger, proteinhaltiger, lipidhaltiger Saatgutarten und der Gruppe der unbestimmten Speicherstoffe Miscellaneous diskutiert.

### Keimfähigkeit

Aus jeder Kulturpflanzenart wurden fünf Akzessionen pro vorhandenen Erntejahrgang ausgewählt, wovon 50 Samen pro Akzession nach den „Internationalen Vorschriften zur Prüfung von Saatgut“ (ISTA 2005) auf ihre Keimfähigkeit untersucht wurden. Für die folgenden statistischen Auswertungen wurde das reale Alter der Akzessionen verwendet, welches zusammen mit den Resultaten aus der Keimfähigkeitsprüfung einen Vergleich der Arten im Probitmodell realisierte.

Das Probitmodell entstand durch die Übertragung der kumulativ, normalverteilten Keimfähigkeiten (Abbildung 1a) in die Probiteinheit (Abbildung 1b). Mittels weiterer Gewichtung der Keimfähigkeitswerte entstand aus der sigmoidalen Samenüberlebenskurve eine Gerade mit spezifischen Parametern (ROBERTS

Tabelle 1: Angaben über verwendete Arten und Anzahl an Akzessionen (n) innerhalb der Keimfähigkeits- (KF), Feldaufgangs- (FA) und Leiffähigkeitsprüfung (LF)

Art	KF	FA	LF	Art	KF	FA	LF
Kohlehydrathaltige Arten							
<i>Avena sativa</i> L.	(95)	(24)	(25)	<i>Triticale</i> Wittm.	(33)	(13)	(13)
<i>Hordeum vulgare</i> L.	(78)	(20)	(22)	<i>Triticum aestivum</i> L.	(75)	(20)	(25)
<i>Secale cereale</i> L.	(59)	(19)	(24)	<i>Zea mays</i> L.	(92)	(17)	(22)
Proteinhaltige Arten							
<i>Lupinus albus</i> L.	(67)	(18)	(18)	<i>Pisum sativum</i> L.	(129)	(25)	(25)
<i>Phaseolus vulgaris</i> L.	(120)	(25)	(25)	<i>Vicia sativa</i> L.	(148)	(17)	(22)
Lipidhaltige Arten							
<i>Brassica oleracea</i> L.	(61)	(18)	(18)	<i>Linum usitatissimum</i> L.	(44)	(20)	(15)
<i>Helianthus annuus</i> L.	(36)	(17)	(17)	<i>Papaver somniferum</i> L.	(36)	(15)	(15)
Miscellaneous							
<i>Allium schoenoprasum</i> L.	(30)	(15)	(15)	<i>Daucus carota</i> Arcang.	(32)	(14)	(15)
<i>Cucumis sativus</i> L.	(52)	(18)	-	<i>Lactuca sativa</i> L.	(36)	(15)	(15)

**Autoren:** M.Sc. Manuela NAGEL, Sibylle PISTRICK und Priv.-Doz. Dr. habil Andreas BÖRNER, Leibniz-Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Corrensstraße 3, D-06466 GATERSLEBEN, nagel@ipk-gatersleben.de

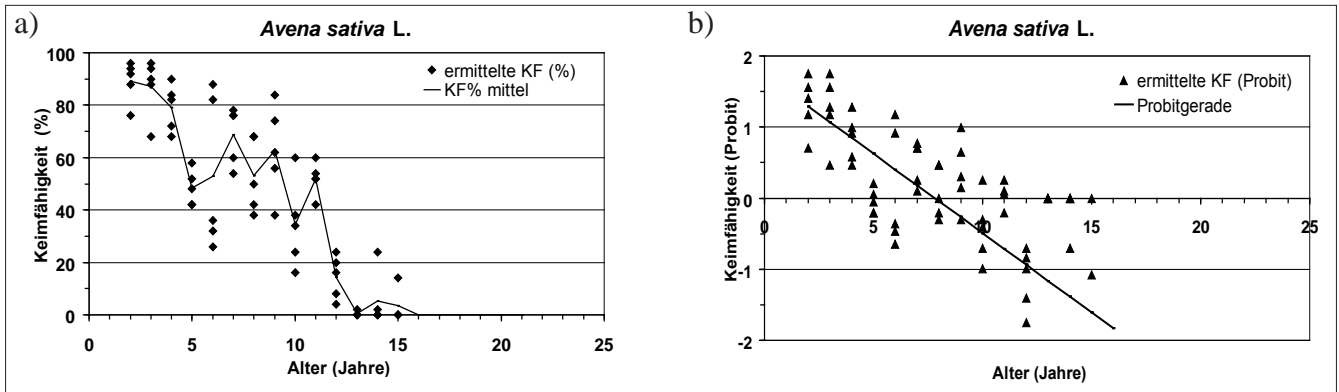


Abbildung 1a, b: Transformation der ermittelten Keimfähigkeiten von *Avena sativa* L. aus dem a) Keimfähigkeitsmodell in das b) Probitmodell

1972). Dabei waren die Geraden durch die Schnittpunkte mit der Abszisse vergleichbar, die im Weiteren als mittlere Samenüberlebensrate bezeichnet wurden und durch die Kürzel KF50% bzw. in der Literatur als P50 vertreten sind.

### Feldaufgang

Aufgrund einer besseren Übersichtlichkeit wurden anhand der Keimfähigkeits-ergebnisse nur spezifische Jahrgänge (25 Samen je Akzession in 2 Wiederholungen) ausgewählt, die das gesamte Spektrum der Keimungsrate abdeckten. Eine Bestimmung des Feldaufgangs erfolgte 2 Wochen bzw. 4 Wochen nach der Aussaat (Aussaat: 22. September 2006). Der Feldaufgang konnte erneut mit Hilfe des Probitmodells verrechnet werden, wobei analog zum KF50%-Wert der Schnittpunkt mit der Abszisse als FA50%-Wert bezeichnet wurde.

### Leitfähigkeit

In Anlehnung an den Feldaufgang wurden die gleichen Akzessionen (100 Samen je Akzession in 2 Wiederholungen) für die Leitfähigkeitsprüfung ausgewählt. Die Prüfung der Leitfähigkeit wurde entsprechend den Vorschriften zur Prüfung von Saatgut (ISTA 2005) durchgeführt und ein Zusammenhang zwischen der Leitfähigkeit und dem Alter mittels der ANOVA überprüft. Im Weiteren zeigte der Duncan-Test, welche Ergebnisse sich signifikant voneinander unterschieden.

## Ergebnisse und Diskussion

### Keimfähigkeit

Die Untersuchung von natürlich gealtertem Kulturpflanzensaatgut auf seine

Keimfähigkeit ergab eine Abnahme der Keimungsrate mit steigendem Lebensalter der Samen. Dabei reduzierte sich die prozentuale Keimungsrate entlang einer sigmoidalen Kurve, die nach ROBERTS (1972) als Samenüberlebenskurve definiert wurde. Die Ausprägung dieser Kurve unterschied sich zwischen den einzelnen Kulturpflanzenarten. Innerhalb einer Art entstanden partiell große Unterschiede zwischen den Keimfähigkeiten der Genotypen eines Jahrganges, wodurch die Standardabweichungen sich stark vergrößerten. Im Besonderen verursachten die Akzessionen von *Lupinus albus* L., *Avena sativa* L., *Hordeum vulgare* L., *Triticum aestivum* L., *Daucus carota* Arcang. und vor allem *Phaseolus vulgaris* L. große Streuungen innerhalb der Jahrgänge. Hingegen war die genotypische Variation zwischen den Keimfähigkeiten einer Alterungsstufe bei den Akzessionen von *Pisum sativum* L., *Vicia sativa* L., *Zea mays* L. und *Cucumis sativus* L. deutlich geringer. Sie wiesen Analogien im Keimungsverlauf auf und erreichten innerhalb ähnlicher Zeiträume einen artspezifischen Abfall der Keimungsrate. Auf der Grundlage dessen liegt der Zusammenhang nahe, dass die innerartliche Variabilität bei einigen Arten größer ist als bei anderen.

Weiterhin ist nach Umwandlung und Transformation der Keimfähigkeitsergebnisse in Probitgeraden zu erkennen, dass die Abnahme der Keimfähigkeit mit zunehmendem Alter artspezifisch unterschiedlich verläuft. Innerhalb der geprüften kohlehydrathaltigen Arten (Abbildung 2a) ist *Zea mays* L. die Art, die mit 12,3 Jahren den höchsten KF50%-Wert besitzt (KF50% = Anzahl der Lagerungsjahre bis Keimfähigkeit

von 50% erreicht ist). Gefolgt wird diese Art von *Hordeum vulgare* L. (KF50%-Wert: 9,8 Jahre), *Avena sativa* L. (KF50%-Wert: 7,9 Jahre) und *Triticum aestivum* L. mit einem KF50%-Wert von 7,2 Jahren. *Secale cereale* L. und *Triticale* Wittm. waren während der Untersuchungen die kohlehydrathaltigen Saatgutarten mit den geringsten KF50% Werten von 5,9 Jahren.

Die proteinhaltigen Arten (Abbildung 2b) konnten durchschnittlich höhere KF50%-Werte erreichen. So war *Pisum sativum* L., die Art mit dem höchsten KF50%-Wert von 13,9 Jahren, gefolgt von *Lupinus albus* L. (KF50%-Wert: 13,7 Jahre), *Vicia sativa* L. (KF50%-Wert: 10,7 Jahre) und *Phaseolus vulgaris* L. (KF50%-Wert: 9,9 Jahre).

Im Gegensatz dazu befanden sich die KF50%-Werte der lipidhaltigen Saatgutarten auf einem geringeren Niveau (Abbildung 2c). *Linum usitatissimum* L. besaß den höchsten KF50%-Wert in dieser Gruppe mit 10,4 Jahren. Mit abnehmenden KF50%-Werten folgten *Papaver somniferum* L. mit 8,2 Jahren, *Brassica oleracea* L. mit 7,3 Jahren und *Helianthus annuus* L. mit 4,7 Jahren.

Starke Unterschiede zwischen der mittleren Samenüberlebensrate (KF50%) traten in der Gruppe der Miscellaneous auf (Abbildung 2d). Durch den hohen KF50%-Wert von 14,9 Jahren verwies *Cucumis sativus* L. auf die Fähigkeit lange keimfähig zu bleiben. Im Gegensatz dazu konnten die Samen von *Daucus carota* Arcang. bereits nach 6,1 Jahren, die Samen von *Lactuca sativa* L. nach 4,6 Jahren und die Samen von *Allium schoenoprasum* L. nach 2 Jahren nur noch zu 50% keimen.

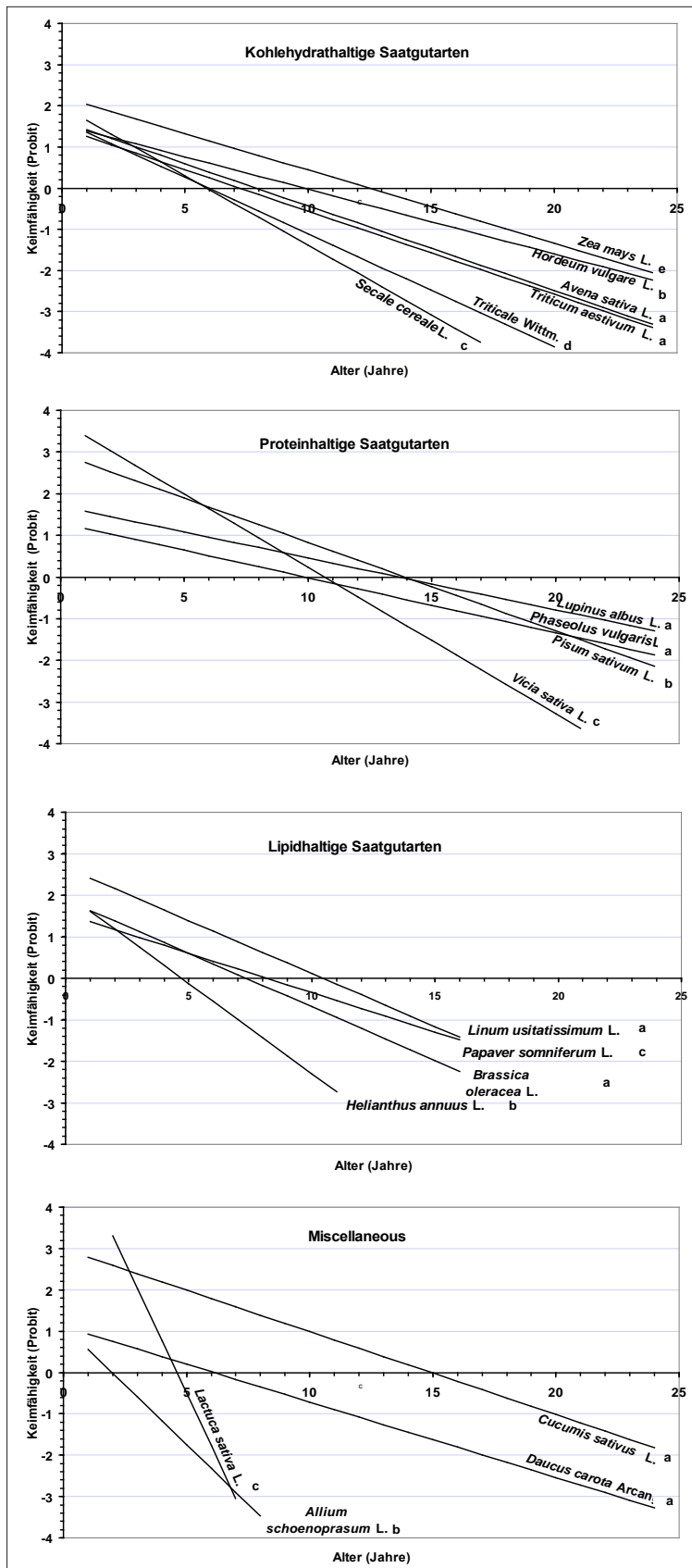


Abbildung 2 a,b,c,d: Entwicklungen der Keimfähigkeiten (Probit) von a) kohlehydrathaltigen b) proteinhaltigen c) lipidhaltigen Saatgutarten und d) der Gruppe unbekannter Speicherstoffe Miscellaneous. Unterschiedliche Buchstaben (a,b,c,d,e) symbolisieren signifikant verschiedene Anstiege der Probitgeraden ( $p < 0,05$ )

Da der Mittelwert der KF50%-Werte der kohlehydrathaltigen Saatgutarten bei 8,4 Jahren, der der proteinhaltigen Saatgutarten bei 12,0 Jahren und der der lipidhaltigen Saatgutarten bei 7,6 Jahren lag, lässt sich eine Beziehung zwischen der Länge der Keimfähigkeit und der Speicherstoffe vermuten. WALTERS et al. (2005) beschreiben diesen Zusammenhang allerdings als hypothetisch, da ihre Studien an 42.000 Akzessionen der NPGS (National Plant Germplasm System) Kollektion der USA keine eindeutigen Beziehungen zwischen den Reservestoffen eines Samens und der Länge der Keimfähigkeit herstellen konnten. Beide Studien besitzen allerdings den Nachteil, dass die genaue Speicherstoffmenge nicht bestimmt und ins Verhältnis gesetzt worden ist.

Dennoch ergibt sich beim Vergleich der KF50%-Werte der aktuellen Studie und der P50-Werte der Literaturdaten von WALTERS et al. (2005) ein Korrelationskoeffizient von 0,594\* bei insgesamt 16 vergleichbaren Arten. Aus diesem Ergebnis ergibt sich die Schlussfolgerung, dass die Keimfähigkeit der einzelnen Genotypen in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer zwar variiert, aber dennoch artspezifisch ist. Lediglich die Länge der Keimfähigkeit kann durch äußere Faktoren verändert werden, das Verhältnis der Langlebigkeit gegenüber anderen Arten jedoch nicht.

### Feldaufgang

Die Feldaufgangsprüfung ausgewählter Jahrgänge der untersuchten Arten sollte weitere Schlussfolgerungen im Hinblick auf den Anbau von natürlich gealtertem Saatgut geben. Zu diesem Zweck wurde analog für den KF50%-Wert (mittlere Samenüberlebensrate) der FA50%-Wert kreiert, der die Anzahl an Lagerungsjahren darstellt bis nur noch 50% der Samen im Feld aufaufen.

Innerhalb der kohlehydrathaltigen Arten formierten sich zwei Gruppen, die ähnliche FA50%-Werte und analoge Anstiege der Probitgeraden besaßen. Die FA50%-Werte der ersten Gruppe waren für *Hordeum vulgare* L. 13,6 Jahre, für *Avena sativa* L. 11,4 Jahre und für *Zea mays* L. 11,2 Jahre. Die Arten der zweiten Gruppe besaßen bereits nach 7,3 Jahren (*Triticum aestivum* L.) und nach 6,4 Jahren (*Secale cereale* L.) nur noch einen 50%-igen Feldaufgang. Insgesamt reagierten vier der fünf kohlehydrathaltigen Saatgutarten mit einer Erhöhung des FA50%-Wertes im Vergleich zum KF50% aus den Keimfähigkeitsprüfungen. Lediglich bei *Zea mays* L. nahm dieser Wert im Feld im Gegensatz zum KF50%-Wert ab, was in einem engeren Zusammenhang mit den für *Zea mays* L. ungünstigen Feldbedingungen stehen könnte. Als Wärme liebende Pflanze mit  $C_4$ -Photosynthesemechanismus konnten die Wachstumsbedingungen im September keine Kompensation der abnehmenden Globalstrahlung erreichen.

Innerhalb der proteinhaltigen Arten war *Lupinus albus* L. die Art mit dem höchsten FA50%-Wert von 17,2 Jahren. Nacheinander verringerte sich dieser Zeitraum bei *Vicia sativa* L. mit 13,7 Jahren über *Pisum sativum* L. mit 12,0 Jahren zu *Phaseolus vulgaris* L. mit 11,6 Jahren. Bis auf *Pisum sativum* L. konnten alle proteinhaltigen Arten den FA50%-Wert im Vergleich zum KF50%-Wert erhöhen.

In ähnlicher Weise reagierte auch das Saatgut der lipidhaltigen Arten auf die Felddausaat. Eine Zunahme der FA50%-Werte erfuhren die Arten *Linum usitatissimum* L. mit 12,6 Jahren, *Helianthus annuus* L. mit 6,8 Jahren und *Brassica oleracea* L. mit 6,8 Jahren. Lediglich *Papaver somniferum* L. erreichte innerhalb eines kürzeren Zeitraumes von 6,6 Jahren einen Feldaufgang von 50%.

Im Gegensatz zu den anderen Speicherstoffgruppen besaßen die Arten der Gruppe Miscellaneous einen geringeren FA50%-Wert im Feld. Im Speziellen bewegte sich der FA50%-Wert bei *Cucumis sativus* L. um 7,6 Jahre, bei *Daucus carota* Arcang. um 5,6 Jahre, bei *Lactuca sativa* L. um 3,3 Jahre und bei *Allium schoenoprasum* L. um 1,8 Jahre.

Obwohl der Feldaufgangversuch Ende September durchgeführt wurde, waren die mittleren Samenüberlebensraten auf dem Feld (FA50%-Werte) der meisten Spezies besser als im Labor. Dieser Unterschied weist daraufhin, dass das Saatgut an die Bedingungen im Feld angepasst ist und diese für einen optimalen Aufgang auch benötigt. Nach POWELL (1988) wird das Auflaufen der Samen durch eine Vielzahl von Faktoren beeinflusst, die im Zusammenhang mit dem Wasserhaushalt, aber auch mit mikrobiologischen Aktivitäten stehen. Im Gegensatz wurde eine Abnahme der mittleren Samenüberlebensrate auf dem Feld vorwiegend bei kleinsamigen Arten beobachtet, die generell durch ihre kleinere Größe und ihr geringeres Samengewicht zu einem geringeren Feldaufgang im Vergleich zur Keimfähigkeit tendieren.

### Leitfähigkeit

Die Prüfung der elektrischen Leitfähigkeit von Saatgut beruht auf dem

Prinzip, dass die löslichen Stoffe der Saat während der Einquellung ins Wasser übergehen und die Elektrolytmenge gemessen werden kann (MATTHEWS und POWELL 1987). Mit steigendem Alter wird die Membranstruktur der Samen unbeständiger, wodurch sich die Diffusion von Ionen während der Quellung verstärkt (MCDONALD 1999). Dies führt zu dem Schluss, dass mit steigendem Alter der Akzessionen auch deren Elektrolytmenge in der Lösung ansteigt. Die Muster von *Pisum sativum* L., *Vicia sativa* L., *Linum usitatissimum* L., *Brassica oleracea* L. und *Daucus carota* Arcang. konnten diesen Aspekt bestätigen. Für die weiteren geprüften Arten der verschiedenen Speicherstoffgruppen traf dies jedoch nicht zu. Besonders die Akzessionen der kohlehydrathaltigen Arten und der Gruppe Miscellaneous stellten keine eindeutigen Zusammenhänge zwischen der Leitfähigkeit und dem Alter sowie auch nicht zwischen der Leitfähigkeit und dem Feldaufgang her. Kohlehydrathaltige Samen sind zum Teil aus totem Speichergewebe aufgebaut, dass bei einer Verletzung zwar die Leitfähigkeit erhöht, aber nicht zwingend sich auf den Feldaufgang oder die Keimfähigkeit auswirkt. Im Gegensatz dazu nutzen die Samen von *Pisum sativum* L. lebendes Gewebe zur Speicherung, welches bei Beschädigung die Leitfähigkeit erhöht und sich in der Reduktion von Feldaufgang und Keimfähigkeit äußert.

Hoch signifikante Beziehungen zwischen der Leitfähigkeit und dem Feldaufgang mit einem hohen Korrelationskoeffizienten erreichten jedoch nur *Pisum sativum* L., *Vicia sativa* L. und *Linum usitatissimum* L. Diese Ergebnisse ermöglichen die Annahme, dass die Prüfung der Leitfähigkeit als schnelle und zerstörungsfreie Methode für diese drei Arten zum Ersatz der Keimfähigkeitsprüfung führen könnte. Doch die genotypischen Unterschiede zwischen den Messwerten und die schwierige Unterscheidung zwischen totem und lebensfähigem Material (THORNTON et al. 1990) würde einen enormen Arbeitsaufwand und unkalkulierbare Risiken nach sich ziehen, so dass die Prüfung der Keimfähigkeit stets zuverlässiger ist.

## Zusammenfassung

Insgesamt konnten die Untersuchungen zeigen, dass der Zeitraum der Lagerung für jede Art einzeln bestimmt werden muss, da die Langlebigkeiten bereits innerhalb einer Gattung variieren. Ebenso unterscheiden sich diese innerhalb einer Art zwischen den einzelnen Genotypen.

Weiterhin konnte der Feldaufgang verdeutlichen, dass die meisten Arten im Feld ein größeres Potential zum Auflaufen besitzen als es die Ergebnisse der Keimfähigkeit belegen. Lediglich kleinsamige Arten besitzen im Feld aufgrund ihrer Größe einen Nachteil.

Die Messungen zur Leitfähigkeit führten zu dem Schluss, dass einige Arten mit steigendem Alter verstärkt Elektrolyte abgeben. Doch für eine standardisierte Nutzung über ein weites Spektrum an Arten ist diese Methode wesentlich ungenauer und damit für den Einsatz in der Genbank nicht geeignet.

## Literatur

- BÖRNER, A., 2006: Preservation of Plant Genetic Resources in the Biotechnology Era. *Biotechnology Journal*, 1: 1393-1404.
- ISTA, 2005: Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut. Internationale Vereinigung für Saatgutprüfung, Bassersdorf.
- MATTHEWS, S. und A.A. POWELL, 1987: Elektrischer Leitfähigkeitstest. In: Handbuch der Methoden zur Prüfung der Triebkraft (Hrsg. D.A. Perry). Internationale Vereinigung der Saatgutprüfung, 2. Auflage, Zürich.
- MCDONALD, M.B., 1999: Seed Deterioration: Physiology, Repair and Assessment. *Seed Science and Technology*, 27: 177-237.
- LININGTON, S.H. und H.W. PRITSCHARD, 2001: Gene Banks. In: *Encyclopaedia of Biodiversity* (Hrsg. S.A. Levin), Volume 3, 165-181. Academic Press, San Diego.
- POWELL, A.A., 1988: Seed Vigour and Field Establishment. *Advances in Research and Technology of Seeds*, 11: 29-61.
- ROBERTS, E.H., 1972: *Viability of Seeds*. Chapman and Hall, London.
- THORNTON, J.M., A.A. POWELL und S. MATTHEWS, 1990: Investigation of the Relationship between Leachate Conductivity and Germination of Brassica Seed. *Annals of Applied Biology*, 117: 129-135.
- WALTERS, C., L.M. WHEELER und J.M. GRO-TENHIUS, 2005: Longevity of Seeds Stored in a Genbank: Species Characteristics. *Seed Science Research*, 15: 1-20.

# Das Lagerungsverhalten von „ultra dry“ Weizensaatgut

Q. YANG und M. KRUSE

## Zusammenfassung

Durch Trocknung mit Silka Gel in geschlossenen Behältern bei Raumtemperatur wurde Weizensaatgut (*Triticum aestivum*) auf Samenfeuchtigkeitsgehalte (SFG) im Bereich von 0,28 bis 7,5% eingestellt. Dieses Saatgut wurde dann bis zu 6 Monate lang bei 50 °C gelagert. Die anschließenden Keimfähigkeitsbestimmungen und Triebkraftprüfungen zeigten für die Samen mit SFG zwischen 1 und 3% die beste Lagerungsfähigkeit. Eine Reduzierung des SFG auf Werte unterhalb von 1% zeigte eher eine schädliche Beeinflussung der Lagerungsfähigkeit. Diese Samen zeigten jedoch immer noch eine hohe Keimfähigkeit nach einer kontrollierten Alterungsprüfung und sind damit immer noch stressstabil. Die Ergebnisse zeigen, dass nach „ultra-dry seed storage“ die Keimfähigkeit und Triebkraft sehr gut erhalten werden können.

## Abstract

Wheat seeds (*Triticum aestivum*) with seed moisture contents (MC) between 0.28 and 7.5% were obtained by using silica gel in a sealed container under room temperature. This seed was then stored for up to 6 month at 50 °C. The following germination and vigour tests showed the best storability for the seeds with MC between 1 and 3%. A reduction of MC below 1% showed a harmful effect upon storability. These ultra-dry seeds showed a great stress tolerance in a controlled deterioration test. These results indicated the potential of ultra-dry seed storage to keep high germination and seed vigour.

## Einleitung

Die „ultra-dry seed storage“ ist eine Saatgutlagerungsmethode, bei der Saatgutproben mit sehr niedrigen Feuchtigkeitsgehalten sogar bei relativ warmen Lagerungsbedingungen schonend und ohne erheblichen Keimfähigkeitsverlust

gelagert werden können. Die Vorteile sind: Eine hohe Keimfähigkeit; Energie-sparend im Vergleich zu der Lagerung bei Tiefgefrierung; Gesunderhaltung des Saatgutes (ELLIS et al. 1996). Aber „ultra dry“ ist nicht gleich „over dry“. Unter zu trockenen Lagerungsbedingungen wird die Lebensfähigkeit des Saatgutes geschädigt. Der Schlüsselpunkt ist, den optimalen Feuchtigkeitsgehalt des Saatgutes für die „ultra-dry“ Saatgutlagerung herauszufinden. In Hinsicht auf die langfristige Aufbewahrung wertvoller Saatgutproben in einer Genbank ist „ultra-dry seed storage“ ein aktuelles Thema mit praktischer Relevanz. Um die Frage,

wie trocken Samen für jegliche Art der Saatgutlagerung mindestens sein müssen und höchsten sein dürfen, zu beantworten, wurde das Lagerungsverhalten von Weizensaatgut mit unterschiedlichen Feuchtigkeitsgehalten unter warmen Bedingungen untersucht. Dabei wurden Weizenproben auf Samenfeuchtigkeitsgehalte von <1% bis ca. 7,5% getrocknet und 6 Monate bei 50 °C gelagert. Anschließend wurden die Keimfähigkeit, die Sprosslänge, die Frischmasse des Sprosses, sowie die Trockenmasse des Sprosses und der Keimwurzeln bestimmt. Eine Sorptionsisotherme wurde ebenfalls erstellt, um den Gleichgewichtszustand

Tabelle 1: Weizensaatgutsmaterial

Sorte	Kulturart	Erntejahr	TKM	SFG	KF <sub>0</sub>	L	SGR
Tomi	Winterweizen	2005	46,40	10,22	95,50	7,7	0,0136
Naturastor	Winterweizen	2006	43,80	9,10	98,75	12,0	0,0136
Triso	Sommerweizen	2006	39,39	12,35	93,50		

TKM: Tausendkornmasse in g, SFG: Samenfeuchtigkeitsgehalt in %, KF<sub>0</sub>: Anfangskeimfähigkeit in %, L: Sprosslänge nach 7 Tagen in cm, SGR: Trockenmasse des Sprosses und der Wurzel in g

Tabelle 2: Keimfähigkeiten (%) der 3 Weizenpartien mit unterschiedlichen Samenfeuchtigkeitsgehalten nach 2, 3, 5 und 6 Monaten Lagerung bei 50 °C (n.b. nicht bestimmt).

Probe	SFG (%)	vor der Lagerung	Keimfähigkeiten			
			nach 2 Monaten	nach 3 Monaten	nach 5 Monaten	nach 6 Monaten
Naturastor	0,23	92	92	n.b.	63	47
	0,58	91	89	n.b.	71	61
	1,24	92	92	90	94	91
	1,92	n.b.	87	82	89	98
	2,66	n.b.	88	89	87	95
	3,68	n.b.	86	90	87	63
	4,49	n.b.	76	67	4	0
	5,38	n.b.	22	0	0	0
	6,27	93	0	0	0	0
	6,27	93	0	0	0	0
Tomi	6,02a	91	n.b.	n.b.	n.b.	n.b.
	6,02b	91	0	0	0	0
	1,42	n.b.	81	80	84	84
	2,23	n.b.	84	80	81	83
	2,84	n.b.	62	54	49	29
	3,73	n.b.	68	16	4	6
	3,88	n.b.	6	0	0	0
	4,57	n.b.	0	0	0	0
	6,62	n.b.	0	0	0	0
	6,61	n.b.	0	0	0	0
Triso	5,33	n.b.	80,5	8	0	n.b.
	6,07	n.b.	52	4	0	n.b.
	6,62	n.b.	24	3	0	n.b.
	7,57	n.b.	0	0	0	n.b.

**Autoren:** MSc. Qi YANG und Prof. Dr. Michael KRUSE, Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART, yangqi@uni-hohenheim.de

zwischen SFG und der relativen Luftfeuchtigkeit (r.H.) bei 20°C im niedrigen Samenfeuchtigkeitsgehaltsbereich zu beschreiben.

## Material und Methoden

Für die Versuche wurden zwei Winterweizen- und eine Sommerweizensorte ausgewählt (Tabelle 1).

Die Weizensaatgutproben wurden über Silka Gel (Trockenperle Orange) auf die unterschiedlichen Trocknungsniveaus getrocknet und anschließend in luftdichte Aluminiumfolientüten verschlossen bei einer konstanten Temperatur von 50 °C in einem Trockenschrank gelagert.

Die Keimprüfungen erfolgten nach den ISTA Vorschriften (ISTA 2005) mit 4 Wiederholungen je 25 Samen. Die Keimfähigkeitsprüfungen wurden 2, 3, 5, 6 Monate nach Beginn der Lagerung bei einer Temperatur von 50 °C durchgeführt.

Die Bestimmung des Samenfeuchtigkeitsgehaltes vor der Trocknung (SFG<sub>0</sub>) erfolgte nach den ISTA Vorschriften (ISTA 2005). Die Bestimmung des Samenfeuchtigkeitsgehaltes nach der Trocknung (SFG) wurde mit dem Gewicht der Proben vor der Trocknung (Gew<sub>0</sub>) und nach der Trocknung (Gew) nach der folgenden Formel berechnet:

$$SFG = \frac{Gew * Gew_0 * SFG_0}{100 * Gew + Gew_0}$$

SFG<sub>0</sub>: Samenfeuchtigkeitsgehalt vor der Trocknung  
SFG: Samenfeuchtigkeitsgehalt n. d. Trocknung  
Gew: Gewicht der Probe nach der Trocknung  
Gew<sub>0</sub>: Gewicht der Probe vor der Trocknung

Die Sprosslänge sowie die Trockenmasse des Sprosses und der Wurzeln 7 Tage alter Keimlinge wurden nach dem Handbook of Vigour Test Methods (HAMPTON und TE KRONY 1995) bestimmt.

Für die kontrollierte Alterung wurden die Samenfeuchtigkeitsgehalte der Weizenproben auf 18% eingestellt. Dann wurden die Proben luftdicht verschlossen und im Wasserbad mit 45 °C 24 Stunden lang gelagert. Die Menge an Wasser (M<sub>1</sub>), die zu einer Probe der Masse (M<sub>0</sub>) mit einem Samenfeuchtigkeitsgehalt (SFG<sub>0</sub>) zugefügt werden muss, um den Zielfeuchtigkeitsgehalt SFG<sub>1</sub> zu erhalten, wurde nach folgender Formel berechnet:

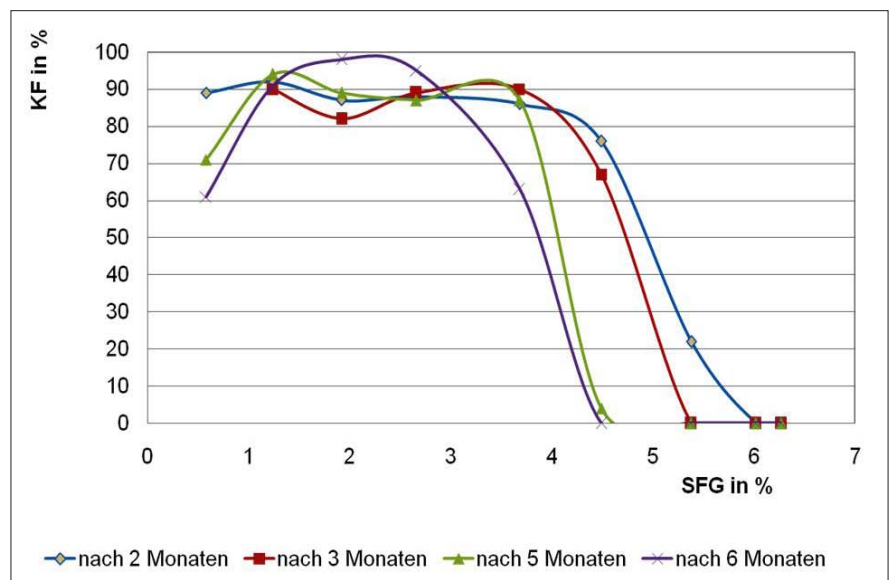


Abbildung 1: Keimfähigkeiten (KF) der Winterweizenprobe Naturastor nach Lagerung bei 50 °C in Abhängigkeit von der Lagerungsdauer und dem Samenfeuchtigkeitsgehalt (SFG)

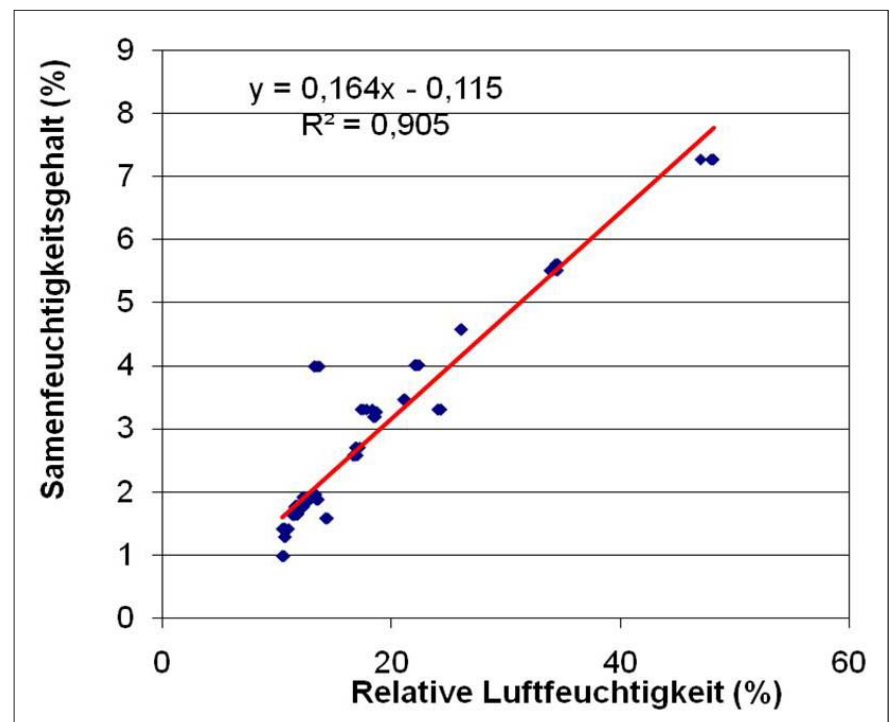


Abbildung 2: Sorptionsisotherme für die Winterweizenpartie Naturastor

$$M_1 = (SFG_1 - SFG_0) * M_0 / (100 - SFG_1)$$

M<sub>0</sub>: Anfangsmasse der Saatgutsprobe in g  
M<sub>1</sub>: Die Menge an Wasser, die zu der Saatgutsprobe zugefügt werden muss in g  
SFG<sub>0</sub>: Anfangssamenwassergehalt der Saatgutsprobe in %  
SFG<sub>1</sub>: Der erwartete Saatgutwassergehalt der Saatgutsprobe in %, hier ist SFG<sub>1</sub> = 18%

Die Ergebnisse der Keimprüfungen wurden mit einer Toleranztabelle nach den ISTA Vorschriften (ISTA 2005) auf signifikante Unterschiede geprüft. Die

Ergebnisse der Triebkraftbestimmungen wurden mit SAS (Statistical Analysis System, Version 9,13) mittels einfacher t-Tests auf signifikante Unterschiede geprüft.

Die relative Luftfeuchtigkeit (r.H.) wurde mit dem Messgerät Testo645 der Firma Testo und einem Einstechfühler in verschlossenen Aluminiumfolientüten mit Saatgut bestimmt.

**Tabelle 3: Die Ergebnisse der Triebkraftprüfungen (Sprosslänge 7 Tage alter Keimlinge (L) und Trockenmasse von Spross und Wurzel (SGR)) der beiden Winterweizenpartien mit verschiedenen Samenfeuchtigkeitsgehalten (SFG) nach der Lagerung**

Probe	SFG (%)	Vigour Test	„Seed Vigour Test“ nach			
			2 Monaten	3 Monaten	5 Monaten	6 Monaten
Naturastor	1,24	L (cm)	12,7	12,5	12,5	12,0
		SGR (g)	0,0118	0,0131	0,0110	0,0142
	1,92	L (cm)	12,6	12,8	12,9	12,2
		SGR (g)	0,014	0,0159	0,0119	0,0151
	2,66	L (cm)	11,2	11,8	11,6	11,6
		SGR (g)	0,0114	0,0127	0,0118	0,0147
Tomi	1,42	L (cm)	7,4	7,9	7,6	7,3
		SGR (g)	0,0110	0,0121	0,0121	0,0115
	2,23	L (cm)	7,2	8,0	7,7	6,9
		SGR (g)	0,0116	0,0124	0,0124	0,0113

L: Keimblattlänge in cm, SGR: Trockenmasse des Sprosses und der Keimwurzel in g

**Tabelle 4: Keimprüfung nach 24 Stunden Alterung**

Probe	SFG (%)	DKF (%)
neu 2-1	0,23	90,50
neu 2-8	0,58	95,50
Kontrolle	9,10	0

DKF: durchschnittl. Keimfähigkeit nach der Alterung

### Ergebnisse

In *Tabelle 2* sind die Keimfähigkeiten der Winterweizenproben für die jeweiligen Trocknungsniveaus vor und nach der Lagerung dargestellt. *Tabelle 3* zeigt nachfolgend die Ergebnisse der Triebkraftprüfungen. Bei Winterweizen gab es während der Lagerung bei 50 °C keinen signifikanten Keimfähigkeitsverlust bei Saatgut mit Samenfeuchtigkeitsgehalten zwischen 1 und 3%. Dies ist der Bereich der „ultra-dry“ Lagerung.

Nach 5 Monaten Lagerung gingen die Keimfähigkeiten der Proben mit 0,23 und 0,58% Samenfeuchtigkeitsgehalt signifikant zurück. Die Weizenproben mit Samenfeuchtigkeitsgehalten über 3% wiesen nach 6 Monaten Lagerung einen starken Keimfähigkeitsverlust auf. Dabei gilt: Je feuchter die Probe, desto größer der Verlust. Die Keimfähigkeiten der Sommerweizenproben, deren Samenfeuchtigkeitsgehalte nicht so niedrig lagen wie die der Winterweizenproben, sanken alle sehr rasch.

Nach ca. 3 Monaten Lagerung verloren die Saatgutsproben fast vorständig ihre Keimfähigkeiten, obwohl sich der SFG immer noch in dem für Saatgutlagerung in Genbanken zugelassenen Bereich befanden. Die Saatgutproben der Sorte Naturastor mit einem SFG von 0,23 und

0,58% zeigten nach der Lagerung und einer kontrollierten Alterung bei 18% SFG und 45 °C immer noch Keimfähigkeiten von 90,5 bzw. 95,5%, während die Probe mit 9,1% Samenfeuchtigkeitsgehalt nach der kontrollierten Alterung ihre Keimfähigkeit vollständig verloren hatte.

Wie *Abbildung 2* ließ sich mit einem Bestimmtheitsmaß von  $R^2 = 0,905$  der lineare Zusammenhang zwischen dem Samenfeuchtigkeitsgehalt und der relativen Luftfeuchtigkeit in dem untersuchten Bereich signifikant beschreiben.

Nach der Formel stehen die „ultra-dry“ Samenfeuchtigkeitsgehalte 1,24%, 1,92% und 2,66% mit jeweils 9,10%, 12,85% und 16,93% relativer Luftfeuchtigkeit im Gleichgewicht. Die zwei „over dry“ Saatgutproben mit Samenfeuchtigkeitsgehalten von 0,23% und 0,58% stehen demnach mit relativen Luftfeuchtigkeiten von 3,53% bzw. 5,46% im Gleichgewicht.

### Diskussion

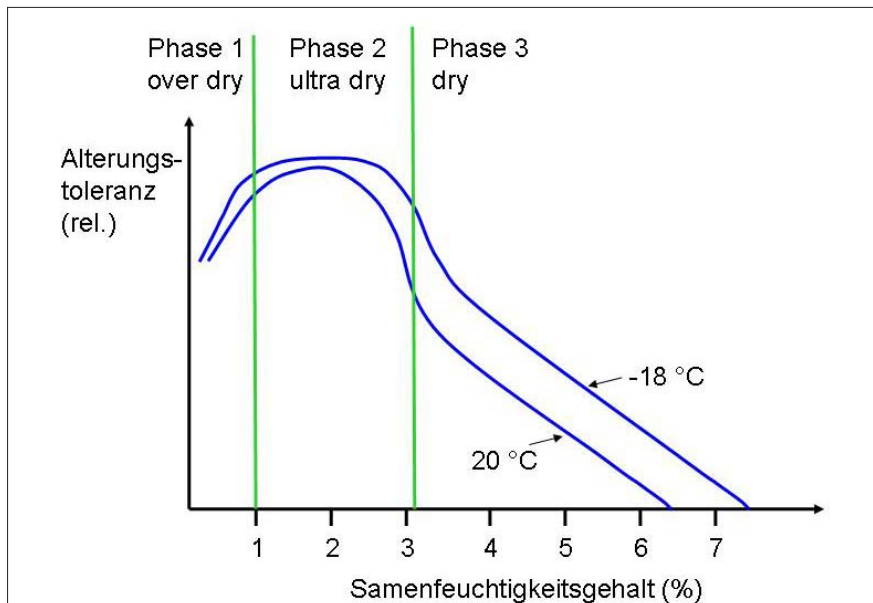
Nach der *Abbildung 3* lässt sich der Samenfeuchtigkeitsbereich von 0% bis 100% bei Weizen in drei Phasen unterteilen:

In Phase drei (SFG > 3%) wird die Beziehung zwischen dem Samenfeuchtigkeitsgehalt und dem Keimfähigkeitsverlust durch die Lebensfähigkeitsgleichung von Ellis und Roberts beschrieben (KRUSE 2000, FLYNN und TURNER 2004). In Phase zwei (SFG zwischen 1 und 3%) kann die Lebensfähigkeitsgleichung die Beziehung zwischen Samenfeuchtigkeitsgehalt und Keimfähigkeitsverlust nicht beschreiben. Der Keimfähigkeitsverlust ist gering und wird vom SFG und auch von der Temperatur nicht wesentlich beeinflusst. In diesem Bereich befindet sich das „ultra-dry“ Saatgut. In Phase eins (SFG < 1%) wird die Lebensfähigkeit des Weizensaatgutes wegen des zu starken Verlustes von starkgebundenem Wasser beeinträchtigt.

### Literatur

ELLIS, R.H., T.D. HONG, D. ASTLEY, A.E. PINNEGAR and H.L. KRAAK, 1996: Survival of dry and ultra-dry seeds of carrot, groundnut, lettuce, oilseed rape, and onion during five years hermetic storage at two temperatures. *Seed Science and Technology*.

FLYNN, S. and R.M. TURNER, 2004: Seed Viability Equation: Viability Utility. *Royal Botanic*



**Abbildung 3: Arbeitshypothese für die weiteren Arbeiten zur „ultra-dry“ Lagerung von Saatgut**

- Garden, Kew. <http://www.rbgekew.org.uk/SID/ViabilityEquation>, 08.01.2006.
- KRUSE, M., 2000: Anwendungen der Lebensfähigkeitsgleichung auf die Lagerung landwirtschaftlichen Saatguts. Arbeitstagung 2000 der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, Österreich, 21.-23. November 2000, BAL Gumpenstein, 33-36.
- HAMPTON, J.G. and D.M. TE KRONY, 1995: Handbook of Vigour Test Methods, The International Seed Testing Association, Bassersdorf, Schweiz.
- International Seed Testing Association, 2005: Seed Science and Technology, 27, Supplement. Zurich, Switzerland, 155-199, 271-273.



# Die Tetrazolium Working Sheets, Methodenentwicklung und Aufnahme neuer Arten in die ISTA-Vorschriften

S. KRÄMER, A. JONITZ und N. LEIST

## Das Topographische Tetrazoliumverfahren

Mit dem Topographischen Tetrazoliumverfahren ist eine rasche und genaue Bestimmung der Lebensfähigkeit von Samen möglich. Selbst bei ruhenden Samen liefert die Lebensfähigkeitsprüfung zuverlässige Information über den Beschaffenheitszustand von Samen in kurzer Zeit. Daher wird sie besonders bei solchen Arten eingesetzt, bei denen eine Bestimmung der Keimfähigkeit sehr eilig, sehr schwierig ist oder sich über längere Zeit hinzieht.

Bei dieser biochemische Methode diffundiert das Triphenyltetrazoliumchlorid nach einer Präparation der Samen in die Gewebe und wird in lebenden Zellen durch Elektronen aus der Atmungskettenreaktion zum rotgefärbten Formazan reduziert. Somit können lebende Gewebe von den ungefärbt verbliebenen toten Geweben differenziert werden (Abbildung 1). Zur Beurteilung von Samen als lebensfähig gibt es artspezifische Auswertungsschemata die das Mindestausmaß und die Lage von gefärbtem, lebendigem Gewebe anzeigen.

Für die Durchführung des Topographischen Tetrazoliumtests liegen die ISTA Working Sheets on Tetrazolium Testing in zwei Bänden vor. Volume I beinhaltet dabei 126 Arten aus 30 verschiedenen

Familien von landwirtschaftlichen- Gemüse- und gärtnerischen Arten, während Volume II 119 Gattungen von Gehölzarten aus 44 Pflanzenfamilien umfasst.

## ISTA Tetrazolium Working Sheets

Wie am Beispiel des Arbeitsblattes für *Abies* (Abbildung 2) zu sehen, sind alle erforderlichen Schritte übersichtlich auf einer Seite dargestellt, die Seiten sind

alphanumerisch sortiert, damit Ergänzungen eingefügt werden können.

Die Schemazeichnungen der ganzen Samen zeigen die Lage der einzelnen Gewebebereiche in einheitlicher Farbsymbolik. Dabei sind die embryonalen Gewebe weiß, die Nährstoffspeicherewe Endosperm und Perisperm gelb, die Samenschalen blaugrün und die Fruchtschalen braun.


1. Species / Genus	<i>Abies</i> , Pinaceae; Fir, Tanne
	Seed tissue (longitudinal section)
2. Instruments	Beakers (4 x 50 ml), dissecting needle, filter paper, forceps, scalpel, support for preparation (rubber), support for evaluation, alcohol for cleaning
3. Pretreatment	None
4. Preparation before staining	Prepare the dry seeds. Cut transversely at both ends, to open embryo cavity. Incubate seeds in TZ solution by the following treatment: Treat TZ imbibed seeds 3 x 10 minutes with low pressure
5. Staining	18 hours, 30°C, 1,0 % TZ-solution
6. Preparation for evaluation	Cut longitudinally through endosperm, expose embryo, remove seed coat
7. Evaluation (maximum area of unstained, flaccid and/or necrotic tissue permitted)	None, except small superficial necrosis on the outer part of the endosperm, not in connection with embryo cavity
8. Remarks	Old and dry seeds may give more consistent results if imbibed for 48 hours Alternative method explained in the ISTA-Rules Table 6A

Fig. 1: Preparation step (s)

Fig 2: Evaluation, examples of none viable seeds.



Abbildung 1: Tetrazoliumtest bei *Prunus*, oben lebensfähige Samen, unten nicht lebensfähige Samen

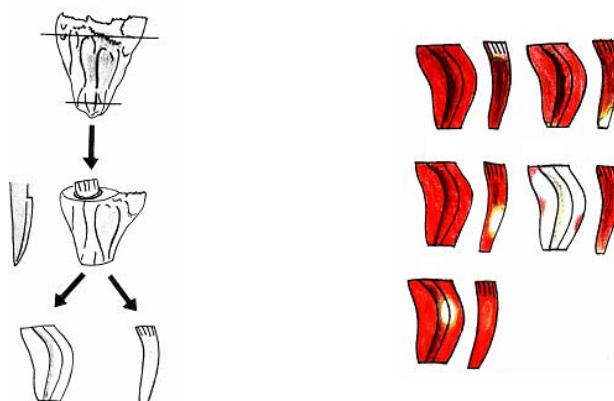


Abbildung 2: ISTA Tetrazolium Working Sheet *Abies*

**Autoren:** Stefanie KRÄMER, Andrea JONITZ, Norbert LEIST, Referat Saatgutuntersuchung und Angewandte Botanik, LTZ Augustenberg, Neßlerstraße 23, D-76227 KARLSRUHE

Dem Saatgutprüfer wird somit schon vor dem ersten Arbeitsschritt vor Augen geführt in welche Gewebebereiche er eingreift. Somit kann er abschätzen wo genau Wundreaktionen zu erwarten sind und ist in seiner Beurteilung sicher.

Ebenso sind die Richtlinien zur Präparation als Skizzen dargestellt bei denen die Schnittführung für jeden Präparations-schritt eingezeichnet ist.

Beispielhaft werden jeweils Färbefelder von nicht lebensfähigen Samen aufgezeigt.

Die bei allen Arten möglichst kurz und gleichförmig gehaltenen Beschreibungen umfassen eine Auflistung der erforderlichen Arbeitsmittel und alle erforderlichen Arbeitsschritte wie die Vorbehandlung, Präparation, Färbung,

detaillierte Vorschriften zur Beurteilung sowie Bemerkungen.

### Aufnahme von Methoden in die ISTA Vorschriften

Für die Aufnahme neuer Arten in die verbindlich geltenden ISTA Vorschriften bedarf es jedoch der Methodenvalidierung. Die Vorgehensweise bei der Eingabe neuer Methoden beginnt mit der Antragstellung zur Aufnahme einer Methode in die ISTA-Rules beim Vorsitzenden des entsprechenden Komitees. Nimmt das Komitee den Vorschlag an, so erfolgt die Erarbeitung und Validierung der Methode in Vergleichsuntersuchungen. Fällt die Validierungsstudie positiv aus, so wird im entsprechenden Komitee über die Aufnahme der Methode abgestimmt und die Zustimmung über das ISTA

Sekretariat an den Methodenausschuss weitergereicht, der die Vereinbarkeit mit den Vorschriften prüft und die endgültige Formulierung bestimmt. In der darauffolgenden Vollversammlung der Vereinigung wird die Methode in die ISTA-Rules aufgenommen. Wird die Annahme des Vorschlages in einer der Prozessstufen abgelehnt, so besteht die Möglichkeit eine revidierte Fassung erneut beim Vorsitzenden des Komitees einzureichen (*Abbildung 3*).

Als methodische und fachliche Vorlagen für Arten, die noch nicht in den ISTA-Rules beschrieben sind, dienen das ISTA Tetrazolium Handbuch von Moore - mit umfassenden Literaturangaben -, die ISTA Tetrazolium Working Sheets, das AOSA Tetrazolium Handbuch sowie die einschlägige Bestimmungsliteratur und Internetquellen.

Bei der Methodenoptimierung sind die unterschiedlichen Einflussparameter für die einzelnen Samenarten abzustimmen. So wurde die im ISTA Tetrazolium Handbuch von Moore beschriebene Methode für die Lebensfähigkeitsbestimmung von *Carthamus* optimiert, indem die einzelnen Arbeitsschritte überprüft wurden.

### Vorgehensweise bei der Methodenentwicklung

Zunächst muss die Samenmorphologie überprüft werden - ist Endosperm oder Perisperm vorhanden oder handelt es sich um Samen ohne Nährgewebe. Wie soll die Präparation erfolgen, in trockenem oder in vorgequollenem Zustand? Wo und wie ist der Same zu öffnen, damit die Tetrazoliumlösung bestmöglichst in alle relevanten Gewebe eindringen kann? (*Abbildung 4*)

Wie konzentriert muss die Tetrazoliumlösung sein und wie ist die Kombination aus Temperatur und Zeit beim Färbevorgang zu wählen, um ein optimales Färbefeld zu erhalten? Unzureichend ebenso wie zu intensiv gefärbte Gewebe können beim wenig erfahrenen Saatgutprüfer zu fehlerhaften Beurteilungen führen. Die Unterscheidung von lebensfähigen und von nicht lebensfähigen Samen muss klaren Richtlinien folgen. *Abbildung 5* zeigt einen nicht lebensfähigen Samen aufgrund nekrotischer Wurzeln und Kolyledon-Schäden im Übergangsbereich von der Wurzel zu den Keimblättern

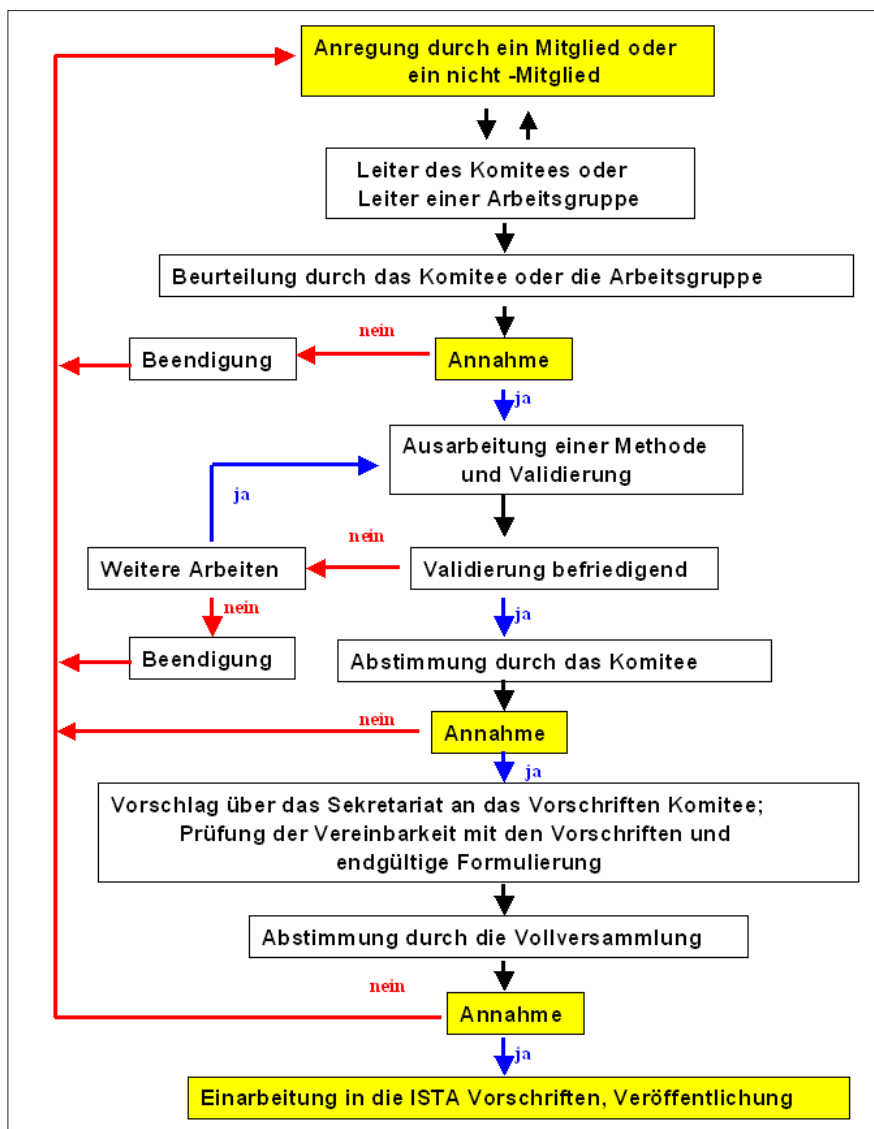


Abbildung 3: Vorgehensweise bei der Einbringung von Methoden in die ISTA Vorschriften

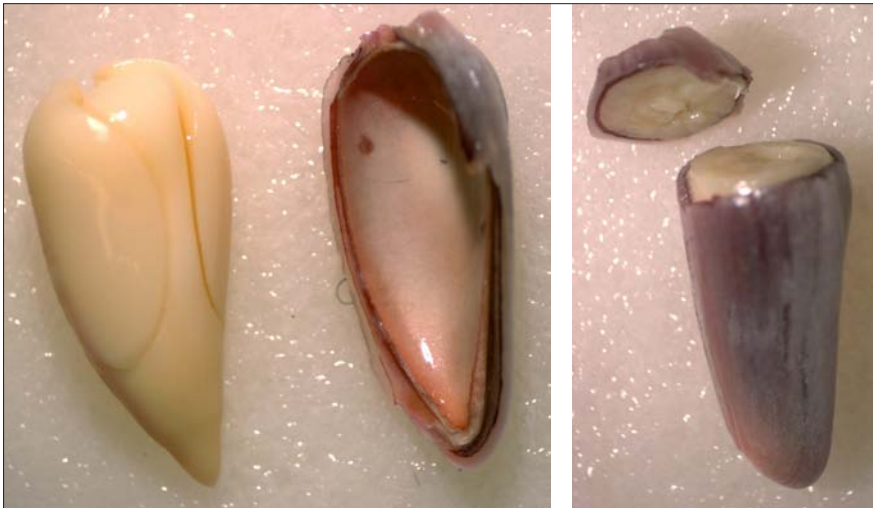


Abbildung 4: Optimierung der Präparationsmethode bei *Carthamus*, Öffnung des Samens in Längs- oder Querrichtung

(Abbildung 5). Ist eine Methode so im Detail beschrieben, wird der Methodenentwurf zur Aufnahme in die ISTA-Rules eingereicht.

#### ISTA Validierungsstudie bei Tomate, *Lycopersicon esculentum*

Im Folgenden wird das aktuelle Verfahren der Aufnahme des Topographischen Tetrazoliumtests für Tomate, *Lycopersicon esculentum* in die ISTA Vorschriften beschrieben.

Im Oktober 2006 wurde durch das Tetrazoliumkomitee beschlossen, die Methode zur Lebensfähigkeitsbestimmung bei Tomate in die ISTA-Rules aufzunehmen. Eine Methode lag bereits in den ISTA Working Sheets vor, sodass nur noch eine Validierung der Methode erfolgen musste. Die Organisation dieser Aufgabe wurde von Herrn Dr. HERR, Universität Hohenheim zusammen mit der Vorsitzenden des Tetrazoliumkomitees Frau KRÄMER, LTZ Augustenberg übernommen.

Als erster Schnitt war die Planung der Validierungsstudie im Hinblick auf die statistische Auswertung erforderlich. Nach der Materialbeschaffung im Januar 2007, die vier Proben unterschiedlicher Qualität umfasste, musste dieses auf seine Eignung mit jeweils 4 x 100 Samen voruntersucht werden.

Danach konnten 9 Labore weltweit für die Teilnahme an dem Ringuntersuchungen gewonnen werden, an welche Mitte Februar die Proben verschickt wurden. Die Untersuchung musste bei allen vier Qualitäten an jeweils 4 x 100 Samen erfolgen, der Ergebnisbericht sollte Ende März vorliegen, sodass die statistische Auswertung bis Oktober 2007 abgeschlossen werden konnte.

Die Beurteilung der Validierungsstudie im Tetrazoliumkomitee einschließlich Abstimmung erfolgte im November 2007, sodass der Termin zum Einreichen von Methodenvorschlägen zur Abstimmung bei der folgenden Vollver-

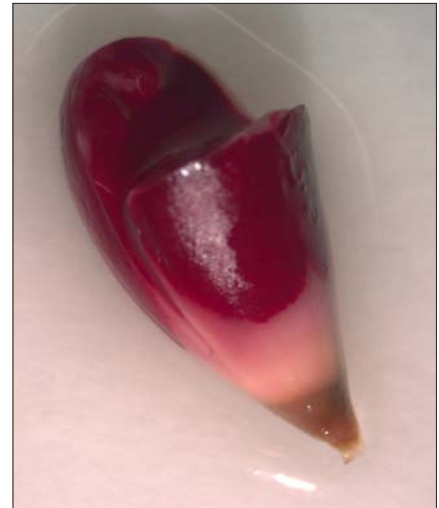


Abbildung 5: Beurteilung des Färbefildes, Schaden an der Wurzel und am Übergangsbereich zu den Kotyledonen

sammlung beim ISTA Sekretariat, im November 2007, eingehalten werden konnte.

Nach erfolgreicher Abstimmung über die Methode bei der ISTA Vollversammlung im Juni 2008 wird die Methode in die ISTA-Rules aufgenommen und steht somit als weitere Methode für die Ausstellung von Tetrazoliumergebnissen bei Tomate auf ISTA Zertifikaten zur Verfügung.

#### Literatur

- ANONYMUS, 2006: Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut, Internationale Vereinigung für Saatgutprüfung, P.O. Box 412, 8042 Zürich, Schweiz.
- GRABE, D.F., ed., 1970: Tetrazolium testing handbook for agricultural seeds. Association of Official Seed Analysts, US, Contribution 29.
- MOORE, R.P. ed., 1986: Handbook on Tetrazolium testing. International Seed Testing Association, Zürich.
- LEIST, N., S. KRÄMER and A. JONITZ, 2003: ISTA Working Sheets Vol. I and II International Seed Testing Association, Zürich.

# An automated image analysis system for seed vigour assessment in rapeseed

G. TOHIDLOO, M. KRUSE, H. DADGOSTAR, I. BORCHARDT, A.E. BAER and M. FRAUEN

## Abstract

For vigour testing in rapeseed (*Brassica napus* L.), seeds were germinated in the dark under optimum conditions (no drought stress, 20 °C for 48 h) and under drought and temperature stress (PEG with water potential of -0.3 MPa at 30 °C for 48 h). Due to a vertical orientation of the blotters, seedlings were grown alongside the paper. For evaluation of seed vigour, blotters with seedlings were scanned with an inverted flatbed scanner and images were analysed with a self developed software program, called AutoVig. Mean and standard deviation of seedling area were determined. Differences between the seed lots were significant in both tests. Under optimum germination conditions seedling area was at least doubled compared to stress conditions. The results obtained with the AutoVig system from 34 rapeseed seed lots were correlated with field emergence data of the same seed lots from 20 field experiments. The mean field emergences ranged from 21 to 86%, indicating a broad stress variation. Significant positive correlations between AutoVig data obtained under stress and the field emergence percentages were found in 15 field experiments, between AutoVig data obtained under optimum conditions and the field emergence percentages in 19 field experiments. Moreover, the results of 19 field experiments were positively correlated with standard germination according to the ISTA Rules but correlation coefficients were generally lower than between field emergence and AutoVig.

## Introduction

Many efforts have been done to employ computer based imaging systems to easily investigate different parts of plant or seed for different goals. Some of those systems simply consider seed size, shape

and colour during the germination process under optimum and stress conditions (DELL'AQUILA 2007). MCCORMAC et al. (1990) developed an automated system for the assessment of vigour in lettuce (*Lactuca sativa* L.) seed lots.

By growing the seedlings using a slant-board test in which seeds were planted on a blotter and grown vertically in the dark, a video camera was able to capture gray-scale images of seedlings. But they were able to capture only five seedlings per image due to limitations imposed by the imaging device. Commercial seed vigour assessment systems also exist to determine seed vigour, such as the Ball Vision Index (CONRAD 1997) and the Paradigm System (MCNERTEY 1999). These systems capture and examine seedling parts such as cotyledon area (Ball Vision Index) or root length (Paradigm System). In general, such tests must be objective (even though subjective interpretation may be required), rapid (to meet client and laboratory requirements), simple (from a cost prospective and also to allow moderately trained personnel to conduct the test), economically practical (the costs involved should not outweigh the benefits), and reproducible (ISTA 1995).

Considering those expectations, in the last five years an automated image analysis system was developed by Sako and MCDONALD (2001) for vigour assessment of lettuce. The system addresses an imaging platform that can capture images of multiple seedlings from the side, enabling simultaneous measurements of both hypocotyls and radicles. Later on, they adjusted the system for cucumber (*Cucumis sativus* L.) and developed it for soybean (*Glycine max* L.), too (SAKO et al. 2004, MCDONALD et al. 2005). XU et al. (2005) tried to solve seedlings overlap in corn (*Zea mays* L.) which is

one of the key notes of image analysis systems in species in which seedlings have multiple roots. HOFFMASTER et al. (2005) developed a seed vigour imaging system for three day-old soybean and corn seedlings which could classify the seedlings into six categories based on their shape. All above mentioned image systems were technically verified in the lab but not validated as vigour test by field emergence data obtained under stress conditions. Such a validation is required according to the ISTA seed vigour committee for the assessment of seed vigour tests. Therefore, the main objectives of this study were:

1. Development of an automated image analysis system for seed vigour assessment in rapeseed (*Brassica napus* L.), based on the principle of the system of Sako and MCDONALD (2001).
2. Validation of the system by comparison of the results with field emergence under different field conditions.

## Material and Methods

For the experiments 34 seed lots from five different varieties of winter rapeseed (*Brassica napus* L.) were used, including seed lots with germination percentages below the certification threshold (85%).

In preparatory experiments it was found that germination in a water potential of -0.3 MPa at 30 °C for 48 h provides appropriate stress intensity for vigour testing in rapeseed. The water potential in this study was obtained with a polyethylene glycol (PEG) solution according to MICHEL and KAUFMANN (1973).

For vigour tests, 50 positions were marked on a blue blotter (Anchor Paper, St. Paul, MN, USA; landscape format

**Autoren:** MSc. Ghasem TOHIDLOO, Prof. Dr. Michael KRUSE, Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, D-70599 STUTTGART; H. DADGOSTAR, Universität Stuttgart, Fakultät für Informatik, Elektro- und Informationstechnik, D-70569 STUTTGART; I. BORCHARDT, A.E. BAER and M. FRAUEN, Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, D-24363 HOLTSEE

23×14 cm, 3 rows of 17, 16 and 17) by using a pencil and a template. The blotter was saturated with the PEG solution and placed inside a 25×21×2 cm plastic box (Bock, Lauterbach, Germany). Then, the seeds were planted at the positions and were covered with a wax paper sheet (23×14 cm, Anchor Paper, St. Paul, MN, USA) and another saturated blue blotter. On top of the blotter, the second replicate of 50 seeds was planted and so on. Each box finally comprised four replicates of 50 seeds and the top was covered with an extra blue blotter. The entire stack was carefully pressed with a flat plastic plate to fix the seeds at their positions. The plastic box was covered with a plastic foil and fixed firmly with a rubber band and placed upright, i.e. the blotter surfaces were at almost 90° from the horizontal, in a dark germinator at 30 °C for 48 h. After that period, the boxes were opened and the blotters with the seedlings were removed from the boxes and placed one by one into a rack that contains a flatbed scanner (hp-scan jet, model 4400 C) in an upside-down orientation in the cover (Figure 1). When closing the cover, the glass plate of the scanner is just above the seedlings on the blotter and images were scanned at high resolution (1200 dpi) and saved as JPG files.

For image analysis, a specific software program called AutoVig was written in Matlab 7.1 (The MathWorks, Inc. 3 Apple Hill Drive Natick, MA-US). The main procedure is the following: First, the

blotter is extracted from the entire image. Then the colour of picture is converted to black and white and a grey threshold is applied to separate the bright seedlings from the dark background.

Afterwards, small non-seedling areas like non-germinated seeds, seed coats or reflections in the blotter were discarded by applying a minimum threshold for the pixel number of white areas. Then, the remaining white areas were counted and the number is shown on the program screen. Thereafter, the sizes of the white areas were determined in pixel and exported to an Excel file (Microsoft Excel, 2003). Also, mean size of the white areas and the standard deviation is indicated for the analyzed blotter on the screen.

For further statistical analyses, data were exported to Statistical Analysis System (SAS, version 9.13), e.g. for correlation analyses with field emergences.

For standard germination tests seeds were germinated in germination boxes on blue blotters according to the ISTA Rules (2005). Four replicates of 50 seeds were germinated at 20 °C for 7 days and the numbers of normal seedlings were recorded.

For field emergence tests, 20 field experiments were conducted in five different locations during 2005 and 2006. The experiments were done with different experimental designs, sowing depths and dates using the same 34 seed lots. It was taken care that no volunteer rapeseed was

present. Field emergences were counted about two weeks after sowing when emergence was completed.

## Results

The image analysis system resulted average seedling sizes per seed lot between 326 and 472 pixels when germinated under stress conditions and between 630 and 1225 pixels under optimum conditions. Table 1 shows that seedling sizes under stress conditions were considerably smaller than those under optimum conditions. The standard germination ranged between 76 and 99%.

Mean field emergences per field experiment ranged from nearly 20% (heavy stress condition) to 86% (optimum condition). Mean field emergences per seed lot ranged between 50 and nearly 65%.

Correlation coefficients between mean seedling size in the stress test, mean seedling size in the optimum test, percentage of normal seedlings in the standard germination test and field emergences in the 20 different experiments are shown in table 2. There were mostly positive correlations between the test results and field emergences. Out of 20 coefficients of correlation, 19 were significant for the correlation between seedling size in the optimum test and field emergence, 15 were significant for the correlation between seedling size under stress conditions and field emergence and 19 were significant for the correlation between standard germination and field emergence. Generally, most of the correlation coefficients between seedling size in the optimum test and field emergences were higher than those between standard germination and field emergence, which again were generally higher than those between seedling size in the stress test and field emergence.

## Discussion

There are many laboratory and field emergence researches on different plant species which argue and proof that both germination velocity and uniformity play a decisive role for field emergence. These two properties are the most important and good predictors of seed vigour (SAKO and MCDONALD 2001).

Image analysis is a very fast and objective tool for measuring seedling size in

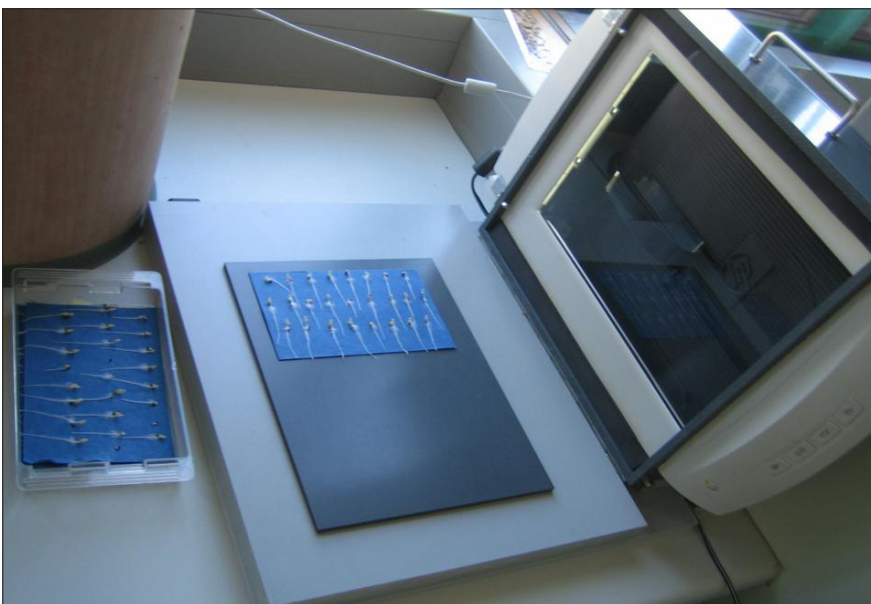


Figure 1: The PVC box containing the upside-down orientated scanner in the cover

**Table 1: Mean seedling area of the seed lots germinated under optimum (SAVN) and stress conditions (SAPE)**

Seed lot	SAVN (Pixel)	SAPE (Pixel)	Seed lot	SAVN (Pixel)	SAPE (Pixel)
1	630	459	18	890	457
2	671	337	19	895	441
3	714	456	20	896	434
4	725	374	21	902	447
5	740	328	22	904	441
6	745	348	23	908	443
7	790	326	24	940	409
8	790	373	25	955	428
9	806	428	26	993	431
10	808	352	27	1000	416
11	810	356	28	1001	460
12	817	356	29	1022	421
13	825	376	30	1105	456
14	858	472	31	1112	426
15	860	438	32	1139	447
16	878	367	33	1161	427
17	880	424	34	1225	433

seed vigour testing. Both, germination velocity and uniformity can be obtained easily within a short period of time. The meaning of the measured seedling size values as estimates for seed vigour mainly depends on the kind of germination test, the germination conditions, the measured characteristic and finally also on the precision and accuracy of the measuring tool. As a consequence, developed image analyses systems for seed vigour evaluation for a certain species may not work for others. For ex-

ample rapeseed has a short hypocotyl in comparison with lettuce so that a system adapted to lettuce does not function for rapeseed. AutoVig is specially designed and developed for image analysis of rapeseed. The germination method is done in a kind of „sandwich“-arrangement of the 4 replicates of 50 seeds. Germination is done in a box placed in an incubator at 90° from horizontal for 48 h only. There is a possibility to ignore dead seed and remove small image noises in AutoVig as well. This gives a chance to the user

**Table 2: Correlations between seedling area under stress conditions (SAPE), under optimum conditions (SAVN) and standard germination percentage (NGer) with field emergences in 20 different field experiments**

field experiment	SAPE	SAVN	NGer	field experiment	SAPE	SAVN	NGer
BD0512	0.35*	0.82*	0.52*	HD064	0.46*	0.71*	0.47*
BD0514	0.42*	0.64*	0.42*	HD066	0.27ns	0.45*	0.33*
BD0522	0.53*	0.54*	0.56*	HL051	0.43*	0.58*	0.54*
BD0524	0.62*	0.54*	0.57*	HL052	0.48*	0.62*	0.57*
BD062	0.26ns	0.48*	0.33*	HL06	0.60*	0.64*	0.63*
BD064	0.08ns	0.50*	0.32*	MA051	0.51*	0.46*	0.62*
BD066	0.26ns	0.40*	0.55*	MA052	0.64*	0.46*	0.76*
HD051	-0.23ns	0.16ns	-0.04ns	MA06	0.36*	0.55*	0.48*
HD052	0.52*	0.50*	0.52*	OL051	0.35*	0.59*	0.42*
HD062	0.43*	0.60*	0.51*	OL052	0.44*	0.65*	0.43*

BD0512: Bad Lauchstädt, sowing date 1, sowing depth 2 cm, 2005  
 HD064: Heidfeldhof, sowing depth 4 cm, 2006  
 BD0514: Bad Lauchstädt, sowing date 1, sowing depth 4 cm, 2005  
 HD066: Heidfeldhof, sowing depth 6 cm, 2006  
 BD0522: Bad Lauchstädt, sowing date 2, sowing depth 2 cm, 2005  
 HL051: Hohenlieth, sowing date 1, 2005  
 BD0524: Bad Lauchstädt, sowing date 2, sowing depth 4 cm, 2005  
 HL052: Hohenlieth, sowing date 2, 2005  
 BD062: Bad Lauchstädt, sowing depth 2 cm, 2006  
 HL06: Hohenlieth, 2006  
 BD064: Bad Lauchstädt, sowing depth 4 cm, 2006  
 MA051: Malchow, sowing date 1, 2005  
 BD066: Bad Lauchstädt, sowing depth 6 cm, 2006  
 MA052: Malchow, sowing date 2, 2005  
 HD051: Heidfeldhof, sowing date 1, 2005  
 MA06: Malchow, 2006  
 HD052: Heidfeldhof, sowing date 2, 2005  
 OL051: Oberer Lindenhof, sowing date 1, 2005  
 HD062: Heidfeldhof, sowing depth 2 cm, 2006  
 OL052: Oberer Lindenhof, sowing date 2, 2005

to consider dormant seeds in a lot. Removing small noises will decrease standard deviation of seedlings within replications of a lot and with it increase accuracy of the system. Nonetheless, no small seedling should be removed from the image, since removing of the small seedling might have an influence on the judgment of seed vigour of seed lots. Therefore, it is essential to have a high quality-standardized image analysis system for seed vigour assessment for different species. Another difference of AutoVig compared with other software is the possibility to export the related data of each seed lot into an excel table and observe directly the mean and standard deviation between seedlings and further statistics could be carried out. Thus, AutoVig is a reliable system since the images are objective and all data are accessible for a detail controlling. Moreover, the system is speedy, reproducible and economical. Although this method is developed for rapeseed, it may applicable for other species with the same germination characteristics as well. Finally, the results obtained by AutoVig from germination under optimum and stress conditions have proved its close relation to field emergences under various conditions. Other systems were not validated by field emergence tests. This validation is particularly expressed by the ISTA Vigour Test Committee for verification of every vigour test.

**References**

DELL'AQUILA, A., 2007: Seed size, shape and colour as computer imaging markers of germination quality. *Seed Sci. & Technol.*, 133, 53-56.  
 SAKO, Y. and M.B. MCDONALD, 2001: A system for automated seed vigour assessment. *Seed Sci. & Technol.*, 29, 625-636.  
 MCDONALD, M.B., K. FUJIMURA, Y. SAKO, A.F. EVANS and M.A. BENNETT, 2005: Computer imaging to improve seed quality determinations. Homepage of the Department of Horticulture and Crop Science. The Ohio State University, Columbus, OH 43210-1086. <http://hydrolab.arsusda.gov/RSinARS/cssa/McDonald.pdf>  
 XU, L., K. FUJIMURA, M.B. MCDONALD and A.F. EVANS, 2005: Solving seedling overlap in corn using the OSU seed vigor imaging system. International Society of Seed Technologists. [www. Isstech.org](http://www.Isstech.org).  
 HOFFMASTER, A.F., L. XU, K. FUJIMURA, M.B. MCDONALD, M.A. BENNETT and A.F. EVANS, 2005: The Ohio state university seed vigour imaging system (SVIS) for soybean and corn seedlings. *Seed Technology*, 27, 7-24.

# Energiemais - Stand der Züchtung

R. KREPS

Seit der Novelle des Erneuerbaren Energien Gesetzes (2004) verzichten viele Biogasanlagen-betreiber aufgrund des NAWARO Bonus auf den Einsatz von organischen Rest- und Abfallstoffen und greifen alleinig auf Wirtschaftsdünger und pflanzlichen Substrate zurück. Unter den pflanzlichen Substraten ist der Mais die derzeit wichtigste Kultur zur Biogaserzeugung. In über 90% der neuinstallierten Biogasanlagen wird Mais als Substrat eingesetzt. Es folgen Körnergetreide, Getreide-Gesamtpflanzensilage und Grassilage die in der Regel gemeinsam mit Mais im Fermenter verwertet werden (siehe *Abbildung 1*).

Die Gründe für die Vorzüglichkeit der Maissilage sind vielfältig: hohe Masenerträge in Verbindung mit guten Gasausbeuten je kg TM ergeben hohe Biogaserträge je Hektar, hervorragende Silierfähigkeit und Vergärbarkeit, bekannte Produktions- und Konservierungsverfahren und natürliche auch seine kostengünstige Erzeugung (siehe *Abbildung 2*). Dies und der stetige züchterische Ertragsfortschritt tragen sicher dazu bei, dass auch in Zukunft Mais in dieser Verwertung von großer Bedeutung sein wird.

## Zuchtziele und Materialentwicklung

Bereits 2003 hat man bei der KWS Saat AG die Bedeutung von Mais für die Erzeugung von Biogas erkannt und erste Schritte unternommen, um Hybriden zu entwickeln, die speziell für die Nutzung im Biogasbereich geeignet sind. Folgende Zuchtziele wurden speziell für die Energiemaiszüchtung definiert:

1. Erhöhung des Biomassertrages auf ca. 300 dt/ha GTM bis 2013
2. Sukzessive Steigerung der Methan-gasausbeute pro kg TM

Durch die Kombination beider Zuchtziele soll der Methanertrag von gegenwärtig etwa 6000 m<sup>3</sup>/ha auf 10 000 m<sup>3</sup>/ha bis 2013 ansteigen.

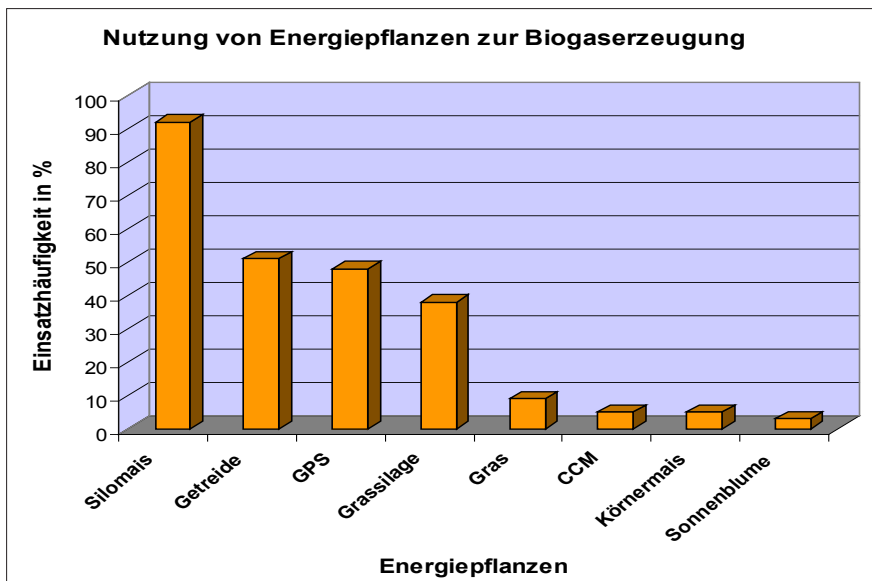


Abbildung 1: Einsatzhäufigkeit von Energiepflanzen zur Biogaserzeugung (WEILAND 2004)

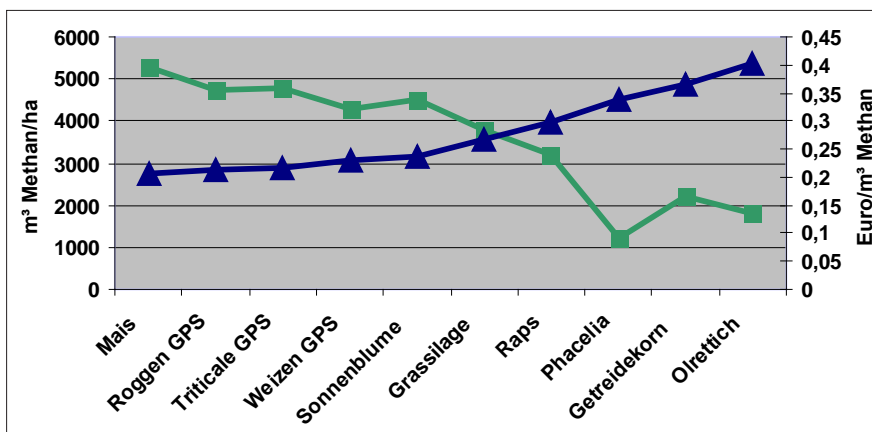


Abbildung 2: Methanertrag und Stückkosten verschiedener Kulturpflanzen (SCHINDLER, LWK Niedersachsen 2005)

Um die Methanausbeute züchterisch zu verbessern, ist es notwendig große Probenumfänge, so wie sie in der Pflanzenzüchtung anfallen, zu niedrigen Stückkosten auf ihren Methanertrag zu analysieren. Hierzu bietet sich die NIRS-Technik an, die bereits sehr erfolgreich zur Online-Bestimmung des Restfeuchtegehaltes im Erntegut auf unseren Erntemaschinen eingesetzt wird.

In einem gemeinsamen Projekt mit der Arbeitsgruppe von Dr. EDER an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirt-

schaft wurde 2005 mit den Arbeiten zur Entwicklung einer NIRS-Kalibration für die Online Bestimmung der Methanausbeute bei Silomais begonnen. Erste Ergebnisse waren viel versprechend, konnten aber im weiteren Verlauf des Projektes nicht bestätigt werden. Im verwendeten Hybridmaterial wurden kaum Unterschiede in der Methanausbeute und nur geringe Beziehungen zwischen Inhaltsstoffen und Methanausbeute gefunden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt ist es uns deshalb nicht möglich die

Autor: Dr. Ralph KREPS, KWS Saat AG, Zuchtstation Gondelsheim, Altenwingertweg 2, D-75053 GONDELSHEIM, r.kreps@kws.com

Methanausbeute pro kg TM auf züchterischem Wege zu verbessern, da wir über kein Selektionsmerkmal verfügen, das zu vertretbaren Kosten die Messung der Methanausbeute erlaubt.

Deshalb haben wir bei KWS die Steigerung des Biomasse-Ertrages pro Hektar im Augenblick als primäres Ziel in der Energiemaiszüchtung definiert, neben den klassischen Zuchtzielen Ertragsstabilität, Stresstoleranz, Krankheits- und Schädlingstoleranz und Standfestigkeit die wir auch aus der Silomaiszüchtung kennen.

Zur Steigerung des Biomasseertrages werden im wesentlichen drei Strategien angewandt:

1. Verlängerung der vegetativen Wachstumsphase
2. Kombination von Spätreife mit Kältetoleranz
3. Integration von Kurztagsgenen aus exotischen Populationen

Zur Verlängerung der vegetativen Wachstumsphase wechseln wir beim Energiemaisanbau in spätere Reifegruppen und nutzen damit das höhere Ertragspotenzial einer späteren Sorte. Dies hat folgende Effekte:

- während der Zuwachs im GTM-Ertrag bei Silomais nach der Blüte durch das Anlegen des Kolbens sehr rasch abflacht, zeigt die Wachstumskurve bei Energiemais aufgrund der späteren Blüte deutlich länger nach oben. Damit hat der Energiemais mehr Zeit für den Aufbau seines Blattapparates und damit zur Anreicherung von GTM.
- folglich ist der GTM-Ertrag des Energiemais zum Zeitpunkt der Silomaisernte höher als der des Silomais. Gleichzeitig können wir durch eine Verschiebung des Erntetermins auf einen späteren Zeitpunkt zusätzliche GTM-Erträge realisieren. Dies ist beim klassischen Silomais aufgrund der frühen Abreife nicht möglich.
- die spätere Reife führt beim Energiemais zu niedrigeren Trockensubstanzgehalten im Erntegut als wir dies bei Silomais kennen. Aber auch beim Energiemais müssen mindestens 28% TS-Gehalt realisiert werden um eine gute und sichere Futterkonservierung durchführen zu können. Keinesfalls werden jedoch wie bei Silomais TS-

Gehalte von 35% und mehr benötigt um die Futteraufnahme im Wiederkäuer zu maximieren. Diese hohen TS-Gehalte können wir im Silomais jedoch nur durch den Anbau entsprechend frühreifer und damit im GTM-Ertrag limitierter Sorten realisieren.

- der Kolbenanteil ist im Energiemais im Verhältnis zum GTM-Ertrag niedriger als im Silomais. Dies hat im Fermenter jedoch keinen Einfluss auf den Methanertrag, da Stärke und Cellulose nahezu identische Biogaserträge liefern (WEILAND 2001).

Spätreife Energiemaisarten erfordern eine entsprechende Kältetoleranz, um diese auch unter kühlen Anbaubedingungen sicher anbauen zu können. Hierzu haben wir bei KWS seit 2004 tausende spät reifende Maisinzuchtlinien aus unseren Zuchtprogrammen in Südfrankreich, Italien und Ungarn in Einbeck unter den dort natürlich kühlen Anbaubedingungen auf Kältetoleranz selektiert und die besten Linien entweder direkt für die Erstellung von Sorten oder aber zur Erzeugung neuer Ausgangspopulationen genutzt.

Um weitere die Massenwüchsigkeit fördernde Effekte zu nutzen, haben wir Kurztagsgene aus exotischen Ressourcen in unser adaptiertes Zuchtmaterial eingekreuzt und daraus Inzuchtlinien entwickelt, die *per se* bereits ein deutlich stärkeres Aufwuchspotenzial besitzen als klassische Silomaislinien.

## Stand der Sortenentwicklung

Die züchterischen Aktivitäten der KWS im Bereich der Energiemaiszüchtung haben in den vergangenen Jahren zu zahlreichen Sortenzulassungen geführt. In *Abbildung 3* sind die Ergebnisse des Energiemais-Sortiments der KWS im Anbaujahr 2007 dargestellt. Diese wurden über 9 Umwelten in 4-reihigen Mikro-Parzellen mit Kernbeerntung von unserem Agroservice geprüft.

Die farbigen Ringe verdeutlichen das Leistungsniveau der verschiedenen Entwicklungsgenerationen in der Energiemaiszüchtung. Der Energiemais der 1. Generation wurde aus spätreifen, massenbetonten Inzuchtlinien aus dem vorhandenen Silomaiszuchtmaterial entwickelt. Dies führte zur Zulassung der Sorten **ATLETICO**, **FRANCISCO** und **AGROGAS** die bei einer nur geringfügig späteren Reife ca. 10% über dem Ertragsniveau des herkömmlichen Silomais liegen.

Für die Entwicklung des Energiemais der 2. Generation wurden kältadaptierte spätreife südeuropäische Inzuchtlinien mit adaptierten Silomaislinien kombiniert. Dies führte 2007 zur Zulassung der Sorten **AMARA**, **DECO** und **LUCATONI**. Weitere Hybriden mit noch deutlich höherem Ertragspotenzial befinden sich aktuell in Wertprüfung 1 und 2 (KXA-Nummern) beim Bundessortenamt in Deutschland oder in anderen Ländern in Zulassungsverfahren.

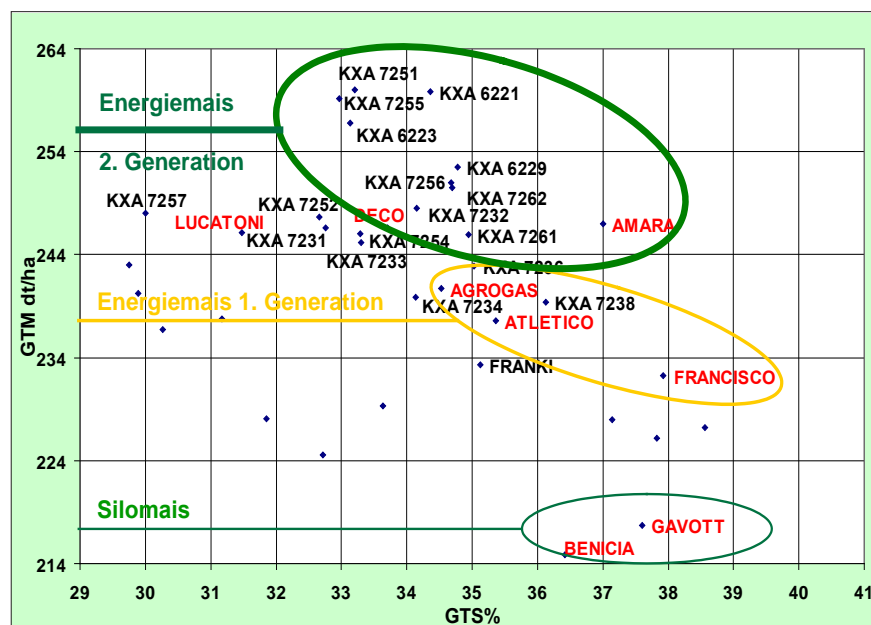


Abbildung 3: Sortenversuche Agroservice KWS über 9 Umwelten in 2007



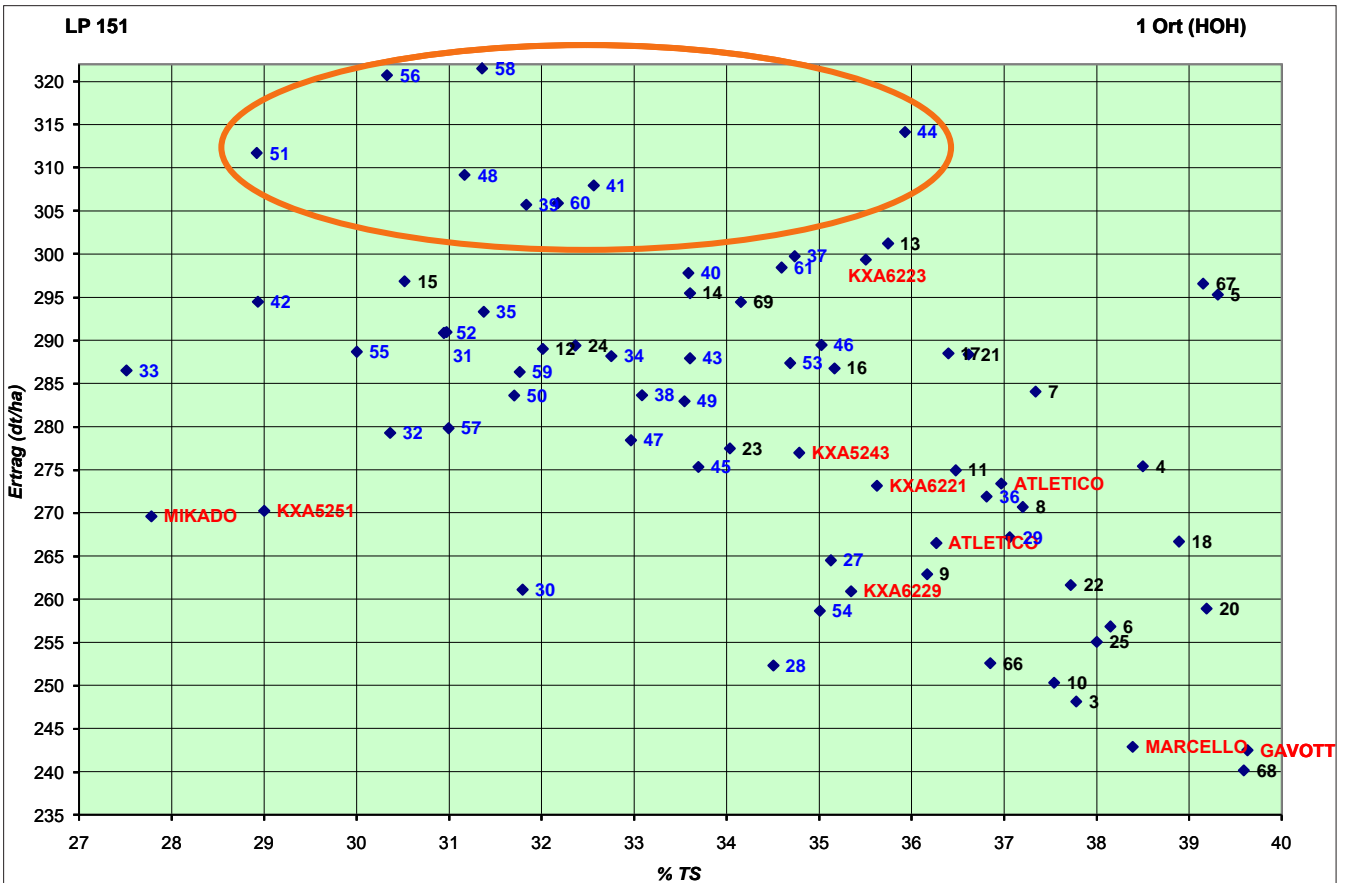


Abbildung 4: Ergebnisse Neuzüchtung Energiemais in Hohenheim 2007

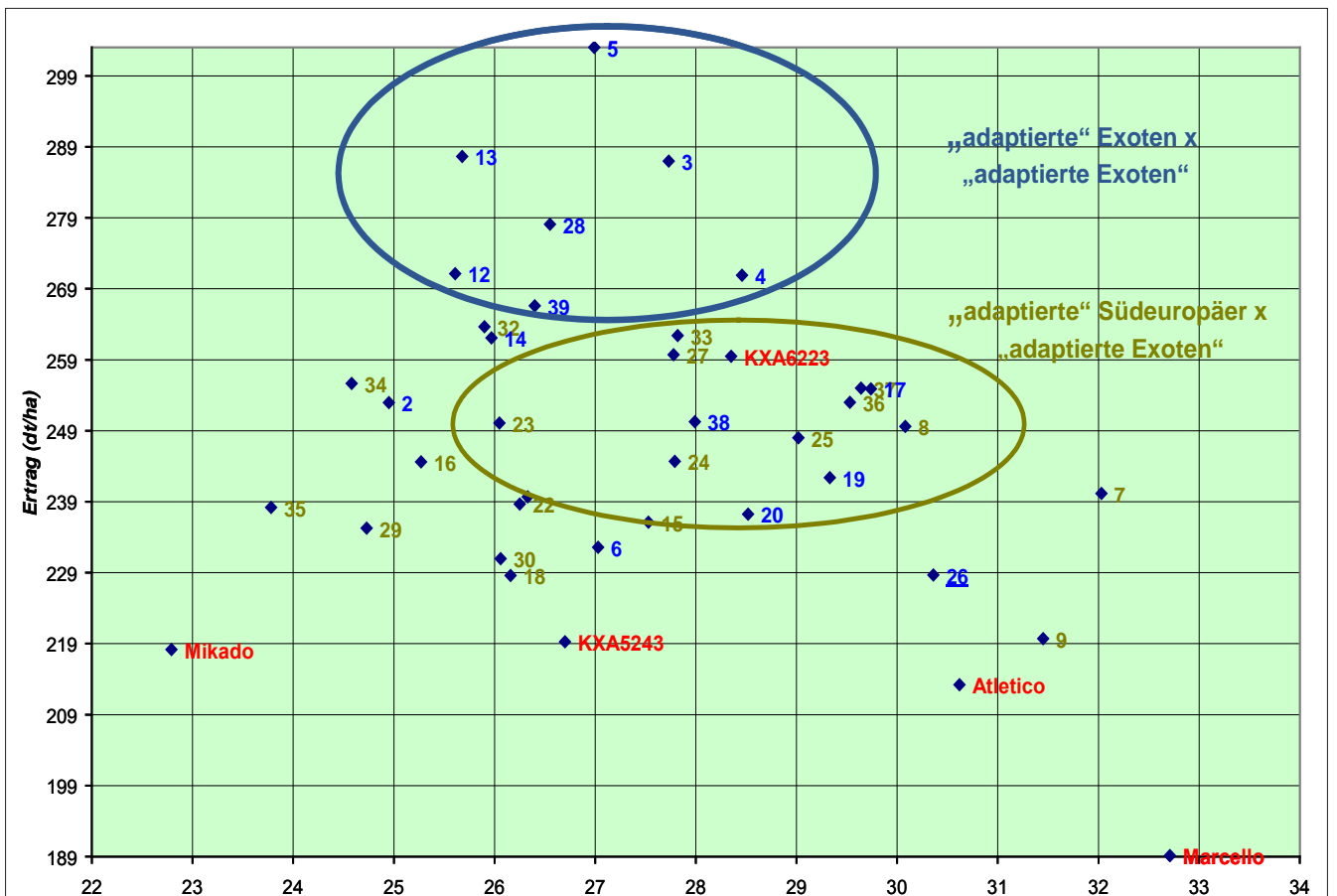


Abbildung 5: Ergebnisse Neuzüchtung Energiemais über drei Umwelten in der Bretagne/Frankreich

Im Vergleich zur 1. Generation können wir mit dem Energiemais der 2. Generation nochmals 10-15% im Ertrag zulegen, verlieren aber zirka zwei Prozentpunkte in der Reife.

Die weitere Fortentwicklung in der Energiemaiszüchtung - die 3. Generation -, die in 4 bis 5 Jahren zur Zulassung kommen soll, wird anhand verschiedener Konzepte in der Materialentwicklung demonstriert.

Es zeigte sich in 2007 das in Kombinationen adaptierter südeuropäischer Inzuchtlinien mit adaptierten Silomaislinien das Ertragsniveau kaum über das Niveau bestehender Sorten der 2. Generation angehoben werden kann. Zwar konnten in diesem Konzept Reifeigenschaften und agronomische Merkmale weiterhin

verbessert werden, zusätzliche Ertrags-sprünge waren aber nicht möglich.

Hingegen durch die Nutzung von Elternlinien, die Kurztaggene aus exotischen Ressourcen tragen, konnte in dem Konzept „adaptierte Exoten“ x „adaptierte Exoten“ ein deutlicher Ertragssprung auf bis zu 300 dt GTM pro Hektar sowohl auf günstigen (siehe *Abbildung 4*) aber auch auf weniger günstigen Standorten (siehe *Abbildung 5*) erreicht werden.

Diese sehr hohen Erträge können aber im Augenblick nur bei einer deutlich späteren Reife realisiert werden (siehe *Abbildung 4*). Deshalb muss zunächst noch sehr stark an der Reife dieses Materials gearbeitet werden, um es für die Praxis nutzbar zu machen. Mindestens 2-3 Jahre sind deshalb in der Materialentwicklung noch notwendig um diese Adaptation zu

erreichen und um andere agronomische Schwächen zu korrigieren.

### Zusammenfassung

- Energiemais der 1. Generation ist in der Leistung herkömmlichen Silomais überlegen und in der Reife angepasst.
- Energiemais der 2. Generation ist in der Leistung herkömmlichen Silomais deutlich überlegen, jedoch in der Reife weiter zu optimieren.
- Energiemais der 3. Generation ermöglicht weitere Leistungssteigerungen. Hier müssen aber neben der Reife auch noch sehr stark die agronomischen Eigenschaften verbessert werden.

Damit ist der Energiemais aufgrund seines höheren Ertragspotentials und seiner späteren Reife ein vom Silomais unabhängiges Marktsegment.

# Entwicklung von Energie-Sorghum für Deutschland Aktueller Stand und Forschungsschwerpunkte

A. ZACHARIAS

Der Energiepflanzenanbau in Deutschland wächst seit mehreren Jahren kontinuierlich an. Im Bereich der Erzeugung von Biogas nimmt der Maisanbau als Rohstofflieferant eine dominierende Rolle ein. Das hohe Leistungspotential der speziellen Energiemaistypen kann jedoch nur bei einer ausreichenden Wasserversorgung über die Vegetationsperiode realisiert werden. Vor dem Hintergrund der Ausdehnung des Energiepflanzenanbaus auch auf Grenzstandorten für den Mais und zur Auflockerung einer Energiepflanzenfruchtfolge hat sich die KWS SAAT AG entschlossen die Kulturart *Sorghum bicolor* in ihr Energiepflanzenkonzept aufzunehmen.

Bei Sorghum handelt es sich eine annuelle C<sub>4</sub>-Pflanze, die sich durch eine sehr hohe Wassereffizienz und geringe Bodenansprüche auszeichnet. Die Ansprüche an geeignete Temperaturbedingungen ist jedoch sehr hoch und hat bisher eine stärkere Ausdehnung dieser Kulturart verhindert. So liegen z.B. die Ansprüche an die Bodentemperatur zur Aussaat bisher bei ca. 12 bis 14°C. Auch die Ansprüche des jungen Keimlings an ausreichend hohe Temperaturen sind zur Zeit noch deutlich höher als im Vergleich zum Mais.

Ziel des KWS-Zuchtprogramms ist es daher mittelfristig geeignete Energie-sorghumhybriden speziell für den Einsatz in Biogasanlagen zu entwickeln, wobei die Zuchtziele wie folgt definiert sind:

- Biomasseerträge auf leichten Standorten auf dem Niveau von Energiemais
- Erhöhung der Kühletoleranz
- Hoher Gehalt an vergärbare Substanz
- Trockensubstanzgehalt bei ca. 28% der FM
- Standfestigkeit und Krankheitstoleranz

KWS bearbeitet das Thema Energie-Sorghum mit eigenen züchterischen



Abbildung 1: Evaluierung verschiedener Sorghumherkünfte auf Massenwüchsigkeit

Aktivitäten bereits seit dem Frühjahr 2005 im Rahmen eines FNR-Verbundprojektes. Start dieses Projektes war die Evaluierung von Restorermaterial unter unseren klimatischen Bedingungen (siehe *Abbildung 1*).

Mit der selektierten Fraktion erfolgte anschließend die Erstellung von Experimentalhybriden, die im Jahr 2006 an

zwei Standorten in Deutschland zum Anbau kamen. Aufgrund der sehr kühlen Vegetationsbedingungen im Mai 2006 konnte ein Totalausfall einzelner Experimentalhybriden beobachtet werden. Dieses Ergebnis zeigt deutlich, wie wichtig das Zuchtziel Steigerung der Kühletoleranz in unseren Breiten ist.

Der weitere Verlauf der Vegetationsbe-

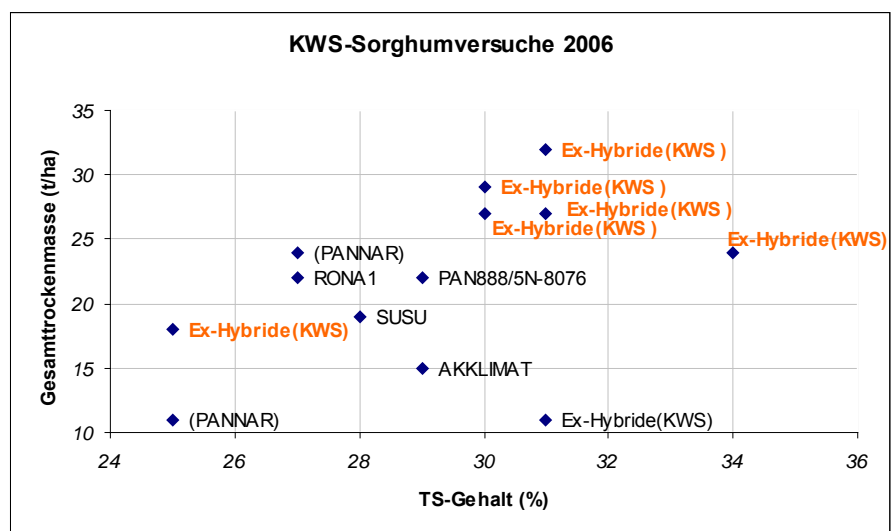


Abbildung 2: Versuchsergebnisse 2006 am Standort Seligenstadt

Autor: Dr. Arndt ZACHARIAS, KWS Saat AG, Grimsehlstraße 31, D-37555 EINBECK, a.zacharias@kws.com

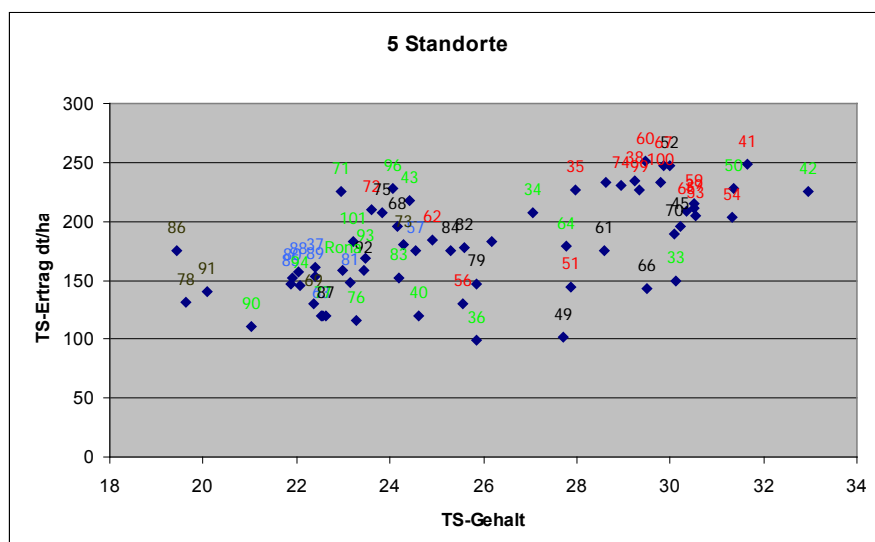


Abbildung 3: Leistungspotential im Mittel über 5 Standorte in der Vegetationsperiode 2007

dingungen 2006, gerade zum Jahresende, war günstig für den Sorghumanbau und es konnten zum Teil erstaunliche Gesamttrockenmasseerträge erreicht werden (siehe *Abbildung 2*)

An einem ausgewählten Prüfsortiment wurde anschließend das Methanbildungspotential erfasst.

Im Gegensatz zu den bisherigen Erkenntnissen aus dem Energiemais konnte im Prüfsortiment keine Korrelation zwischen Biomasseleistung und der jeweiligen erreichten Methanerträgen/ha festgestellt werden.

### Steigerung der Kühletoleranz

Aufgrund der Erkenntnisse der Vegetationsperiode 2006 wurde, neben der Durchführung der Leistungsprüfungen ein breites Screening von Linienmaterial an drei unterschiedlichen klimatischen Standorten angelegt. Zudem erfolgte ein Screening von Experimentalhybriden in Klimakammern unter unterschiedlichen Wachstumsbedingungen. Aufgrund der großen Variation, die wir im Bereich *Sorghum bicolor* finden können, besteht die Hoffnung, dass das Merkmal Kühletoleranz in den nächsten Jahren deutlich verbessert werden kann.

### Ergebnisse der Vegetationsperiode 2007

Das Leistungspotential der Experimentalhybriden in der Vegetationsperiode 2007 lag im Vergleich zur Vegetationsperiode 2006 deutlich niedriger, wobei einzelne Hybriden im Vergleich über 5 Orte bei ca. 250 dt/ha lagen (*Abbildung 3*). Im Vergleich der Prüfstandorte konnte eine deutliche bessere Leistung im Süden Deutschlands verzeichnet werden.

Im Bereich des Zweitfruchtanbaus (Aussaatdatum: 15. Juni) konnten im Mittel über vier Standorte mit den ertragreichsten Hybriden ein Ertrag von über 160 dt/ha realisiert werden. Einzelne Versuche mit einem Aussaatdatum Mitte Juli erreichten nur eine Wuchshöhe von 75 cm und waren nicht auswertbar.

Gerade vor den Ergebnissen der Vegetationsperiode 2007 müssen starke Anstrengungen unternommen werden, damit auch unter suboptimalen Bedingungen ein sicherer Sorghumanbau für den Landwirt möglich ist.

### Steigerung der Qualitätseigenschaften

Zur Klärung der Fragen, welche der verfügbare Materialgruppen eine opti-

male Eignung für die Biogasproduktion haben wurde das Prüfsortiment und das Testsystem für die Vegetationsperiode 2007 deutlich ausgedehnt.

In diesem Rahmen wurden Experimentalhybriden aus unterschiedlichen Materialgruppen erstellt, die neben der Prüfung auf ihre Biomasseleistung auch auf die Methanbildung untersucht werden.

Die Zusammenführung beider Ergebnisse wird eine deutlich bessere Aussage über die zukünftige Selektionsstrategie erlauben.

Neben der Testung der beschriebenen Experimentalhybriden erfolgte auch der Anbau eines bereits charakterisierten Testpanels. Im Rahmen dieses Versuches sollen wichtige Inhaltsstoffe identifiziert werden, die den Methanertrag/ha beeinflussen.

### Fazit

Mittelfristig wird sich der Sorghumanbau in Deutschland deutlich sicherer für den Landwirten gestalten, da in Zukunft auf Sortenmaterial zurückgegriffen werden kann, das unter unseren klimatischen Bedingungen geprüft und selektiert worden ist.

Im Rahmen der Qualitätsuntersuchungen werden wir in diesem Herbst einen deutlichen Ergebniszuwachs erhalten, der eine bessere Grundlage bildet, einen Ideotypen für die Vergärung in Biogasanlagen zu entwickeln.

Im Rahmen der agrotechnischen Fragen, wie Reihenabständen und optimalen Saatstärken müssen weitere Versuche durchgeführt werden, wobei es wahrscheinlich keine einheitliche „Patentlösung“ für alle Standorte gegeben wird.

Vielmehr sollte nach den jeweiligen Standortbedingungen, das Anbausystem optimal auf die Kulturart Sorghum abgestimmt werden, damit das Leistungspotential voll ausgeschöpft werden kann.

# Keimuntersuchungen bei zwei Winterweizensorten mit unterschiedlicher Auswuchsfestigkeit

B. VOIT, J. STANGLMAIER, T. EBERTSEDER und B. KILLERMANN

## Einleitung

Es ruft bei jedem Landwirt Entsetzen hervor wenn er feststellt, dass der Weizen am Halm auswächst. Ursache dafür ist, dass die Keimruhe überwunden wurde und der Embryo ein stärkeabbauendes Enzym freisetzt. Mit diesem Vorgang wird der Mehlkörper des Korns zu einfachen Zuckern umgewandelt und die Keimung am Halm beginnt.

## Definition von Auswuchs

Wenn der Spross bzw. die Keimwurzeln zu sehen sind spricht man von sichtbarem Auswuchs. Ist das Korn nur gequollen und der Stärkeabbau hat eingesetzt spricht man von verdecktem Auswuchs. In der Saatgutprüfstelle Freising wird an der Technischen Reinheitsprobe von 120 g, das sind ca. 2.500 Körner, der sichtbare Auswuchs bonitiert und die Proben in verschiedene Auswuchsstufen eingeteilt (Tabelle 1). Diese von Freising

Tabelle 1: Einteilung der Auswuchsstufen an der Saatgutprüfstelle Freising

„Anzahl deutlich ausgewachsener Körner in 120 g“	Auswuchsstufe
0	kein Auswuchs
≤15	I = schwacher Auswuchsgrad
16-30	II = mittlerer Auswuchsgrad
>30	III = starker Auswuchsgrad

vorgenommene Einteilung hat sich seit Jahren bewährt.

Informationen zum Auswuchsverhalten der verschiedenen Sorten findet man in der Beschreibenden Sortenliste des Bundessortenamtes (BESCHREIBENDE SORTENLISTE 2007). Es gibt keine Angabe, die das Auswuchsverhalten direkt beschreibt. In der Tabelle Qualitätseigenschaften findet man das Merkmal Fallzahl, das sich als Maßstab für die Auswuchsfestigkeit einer Sorte heranziehen lässt. Die Höhe der Fallzahl wird vorwiegend durch die Aktivität der stärkeabbauenden Enzyme bestimmt. Eine hohe Aktivität, die sich durch nied-

rige Fallzahlen ausdrückt, weist auf eine verminderte Auswuchsfestigkeit hin. Die Boniturnoten reichen von 1-9, wobei die Note 1 auf eine sehr geringe Auswuchsfestigkeit hinweist. Die Boniturnote 9 bedeutet die Sorte ist sehr auswuchsfest. Die Sorten, die derzeit eine Anbaubedeutung haben, sind zwischen den Noten 6 und 8 eingestuft. Das bedeutet das Sortenspektrum gilt als verhältnismäßig auswuchsfest und die Sortenunterschiede sind nicht sehr groß.

## Material und Methoden

Ziel dieser Arbeit war es ausgewachsenes und nicht ausgewachsenes Saatgut der

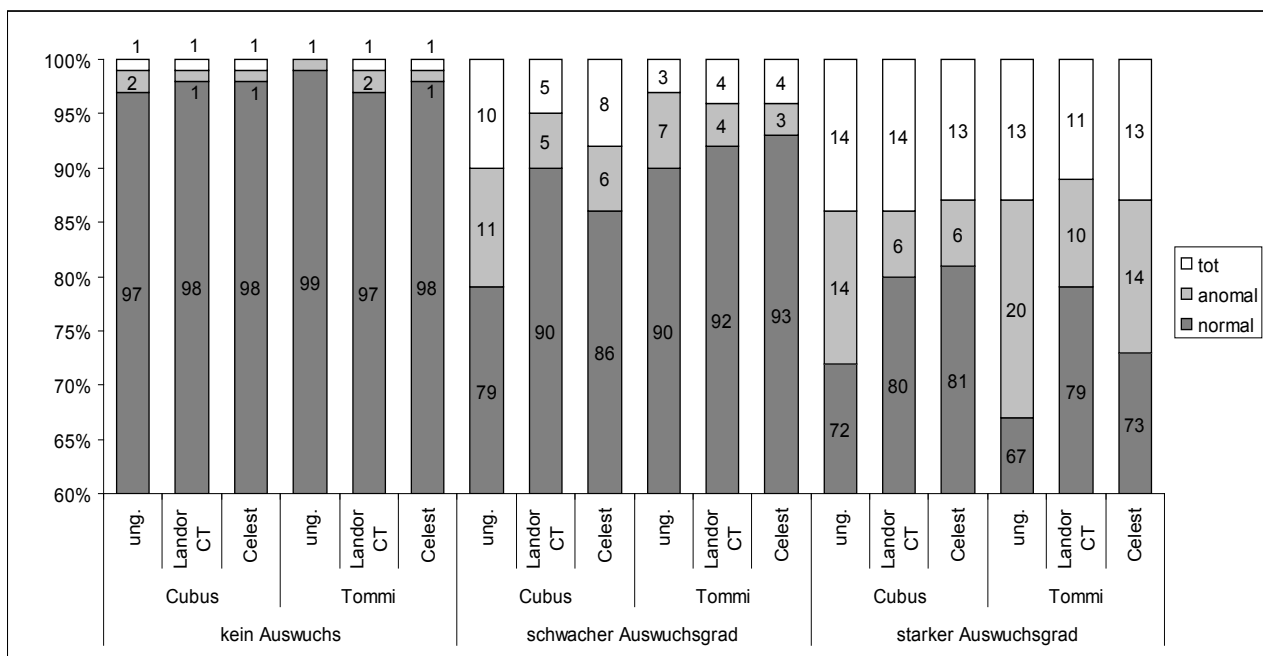


Abbildung 1: Ergebnisse der Keimfähigkeitsprüfung „auf Sand“ der Saatgut-Proben der Winterweizensorten Cubus und Tommi in Abhängigkeit vom Anteil ausgewachsener Körner und der Beizung (ungebeizt, Beizung mit Landor CT® bzw. Celest®)

**Autoren:** Dipl.-Ing. Benno VOIT und Dr. Berta KILLERMANN, Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85354 FREISING; Johann STANGLMAIER und Thomas EBERTSEDER, Fachhochschule Freising-Weihenstephan, Fakultät für Land- und Ernährungswirtschaft, Am Hofgarten 4, D-85354 FREISING

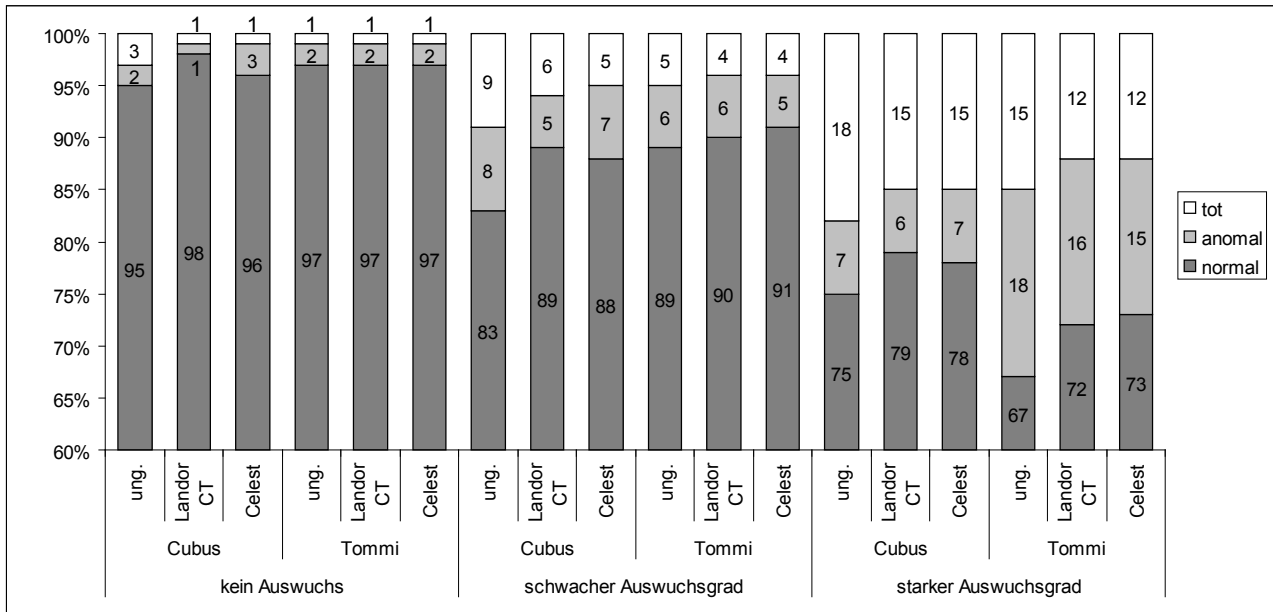


Abbildung 2: Ergebnisse der Keimfähigkeitsprüfung „zwischen Papier“ der Saatgut-Proben der Winterweizensorten Cubus und Tommi in Abhängigkeit vom Auswuchsgrad und der Beizung (ungebeizt, Beizung mit Landor CT® bzw. Celest®)

Sorten Cubus und Tommi unter verschiedenen Keimbedingungen zu testen um festzustellen, ob sich Unterschiede in den Keimergebnissen bezüglich der Sorten und Keimmethoden ergeben. Das Saatgut wurde mit folgenden Keimmethoden nach ISTA (International Seed Testing Association, 2007) geprüft: zwischen Papier (BP, 10/20 °C), auf Sand (S, 10/20 °C) und in Erde (Erde 10/20 °C). Darüber hinaus wurde das unterschiedlich stark ausgewachsene Saatgut auch auf seine

Triebkraft im Erd-Kalttest (Erde, 10 °C) geprüft. Zudem wurde die Lebensfähigkeitsprüfung nach ISTA (Biochemische Prüfung auf Lebensfähigkeit, TTC-Test) bei allen Proben durchgeführt. Nach 3-monatiger Lagerung der Versuchsproben wurden die Keimprüfungen in Sand nochmals wiederholt um zu sehen, ob und wie stark ein Keimverlust bei Auswuchssaatgut eintritt.

Während in früheren Untersuchungen (FUCHS 1964) zum Thema Auswuchs

meist künstlich ausgewachsenes Saatgut verwendet wurde, konnte hier auf natürlich ausgewachsenes Saatgut zurückgegriffen werden. Die ermittelten Ergebnisse können damit 1:1 in die Praxis übertragen werden. Geprüft wurde „nicht ausgewachsenes Saatgut“, „schwach ausgewachsenes Saatgut“ sowie „stark ausgewachsenes Saatgut“. Alle Varianten wurden ungebeizt und gebeizt mit der Universalbeize Landor CT® sowie der Spezialbeize Celest® geprüft.

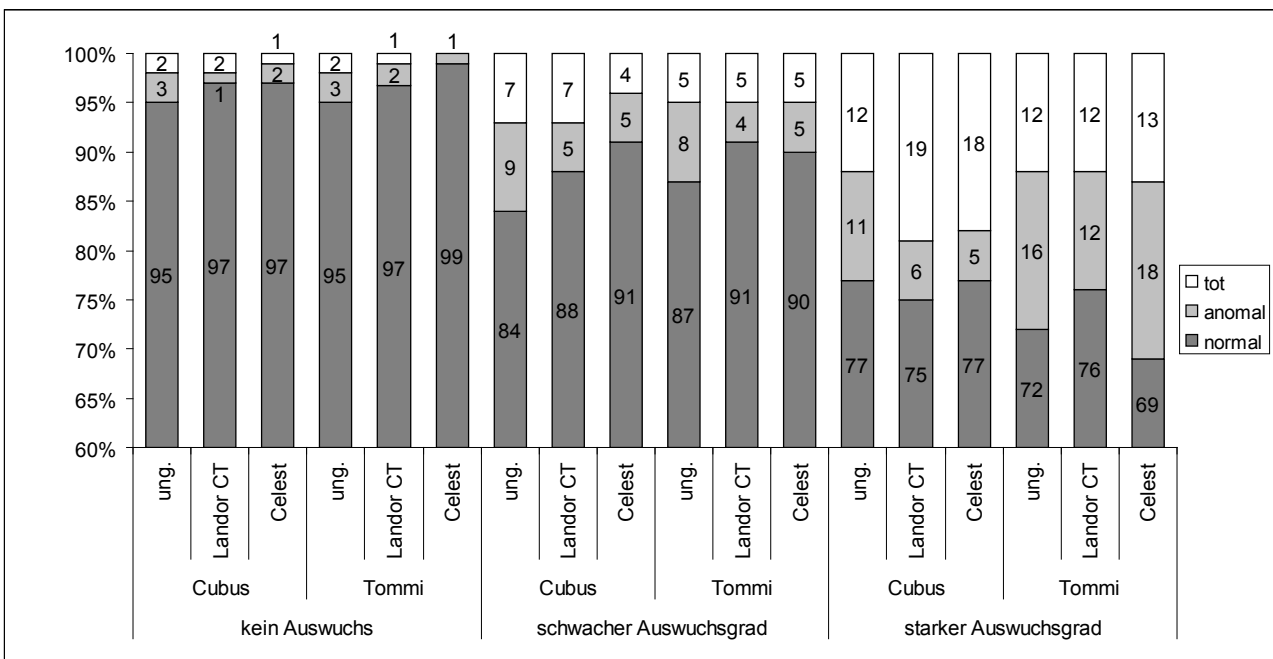


Abbildung 3: Ergebnisse der Keimfähigkeitsprüfung „in Erde“ der Saatgut-Proben der Winterweizensorten Cubus und Tommi in Abhängigkeit vom Auswuchsgrad und der Beizung (ungebeizt, Beizung mit Landor CT® bzw. Celest®)

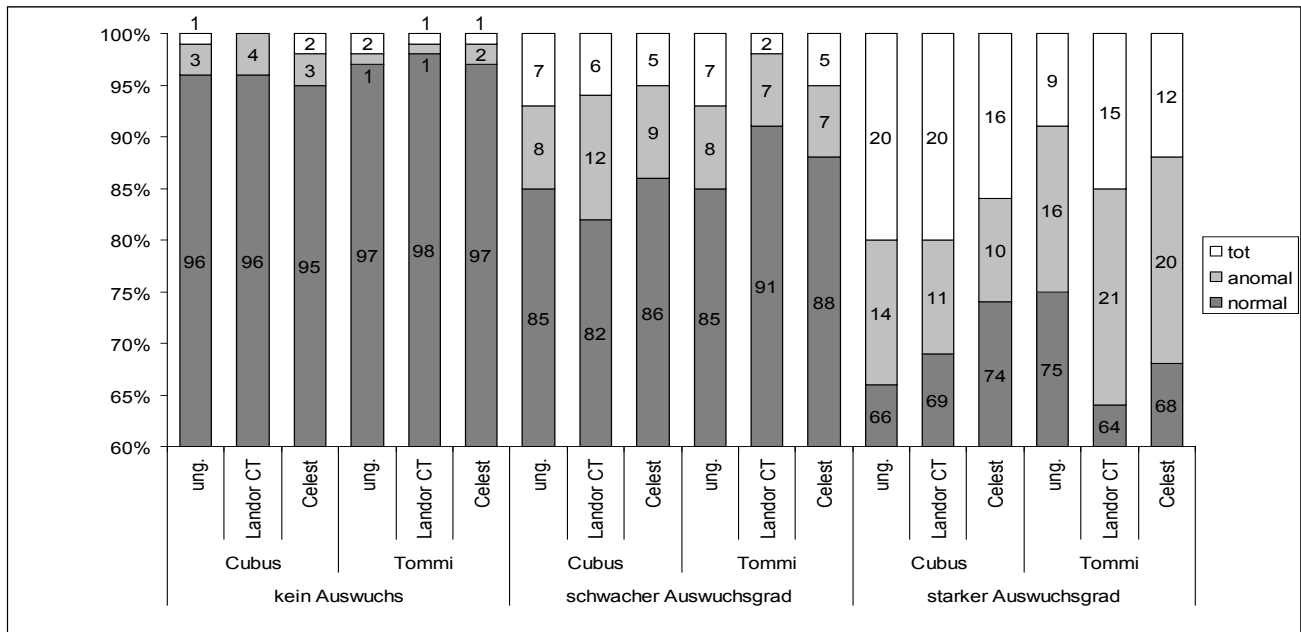


Abbildung 4: Ergebnisse der Keimfähigkeitsprüfung „Erd-Kalttest“ der Saatgut-Proben der Winterweizensorten Cubus und Tommi in Abhängigkeit vom Auswuchsgrad und der Beizung (ungebeizt, Beizung mit Landor CT® bzw. Celest®)

### Ergebnisse und Diskussion

Die Keimergebnisse der nicht ausgewachsenen Proben (Abbildung 1 bis Abbildung 3) liegen bei allen 3 Keimmethoden (Sand, Papier, Erde) bei 95-99%. Die ungebeizten Ergebnisse der beiden Sorten liegen nahezu auf gleicher Höhe wie die gebeizten. Das heißt die Proben weisen keinen keimschädigenden Pilzbefall auf.

Die ungebeizten Keimergebnisse der schwach ausgewachsenen Proben liegen bei beiden Sorten und allen 3 Methoden zwischen 79 und 90%. Durch Beizung

lassen sich, unabhängig ob Universal- oder Spezialbeize, bei allen Varianten die Keimergebnisse verbessern. Die gesetzlich vorgeschriebene Mindestkeimfähigkeit von 92% wird aber nur von der Variante „auf Sand“ bei der Sorte Tommi erreicht. Alle anderen Keimergebnisse liegen ganz knapp unter 92%.

Erstaunlich war, dass bei beiden Sorten und allen Keimmethoden die Beizung zu besseren Keimergebnissen führte, obwohl ausgewachsenes Saatgut als geschädigt und damit in der Keimprüfung als problematisch gilt.

Die Keimergebnisse der stark ausgewachsenen Proben liegen bei den ungebeizten Untersuchungen zwischen 67 und 77%. Durch Beizung lassen sich die Keimergebnisse in der Sand- und Papierkeimprüfung nur noch leicht, dagegen in der Erd-Keimprüfung nicht mehr verbessern.

Die Triebkraftprüfung oder der Erd-Kalttest (FUCHS 1997, VOIT und FUCHS 2000) ist eine Keimprüfung unter verschärften Bedingungen (Abbildung 4). Überraschend ist, dass die Triebkrafteergebnisse im Vergleich mit

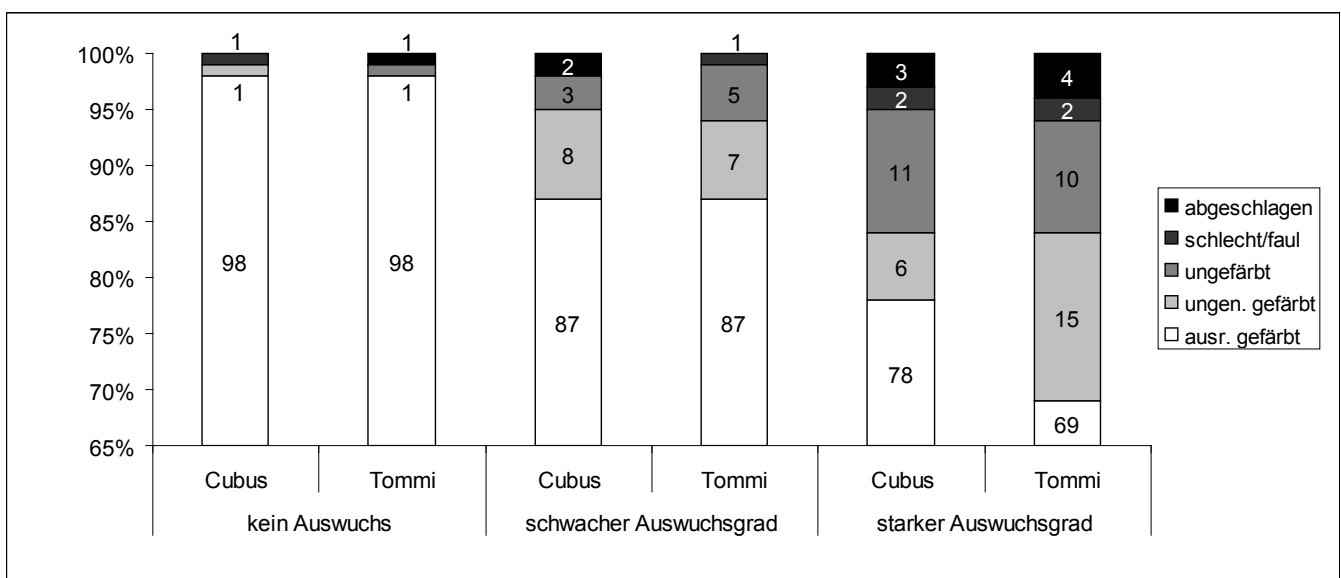


Abbildung 5: TTC-Ergebnisse (ausreichend gefärbte, ungenügend gefärbte, ungefärbte, schlechte/faule und abgeschlagene Embryonen) der Saatgut-Proben der Winterweizensorten Cubus und Tommi in Abhängigkeit vom Auswuchsgrad

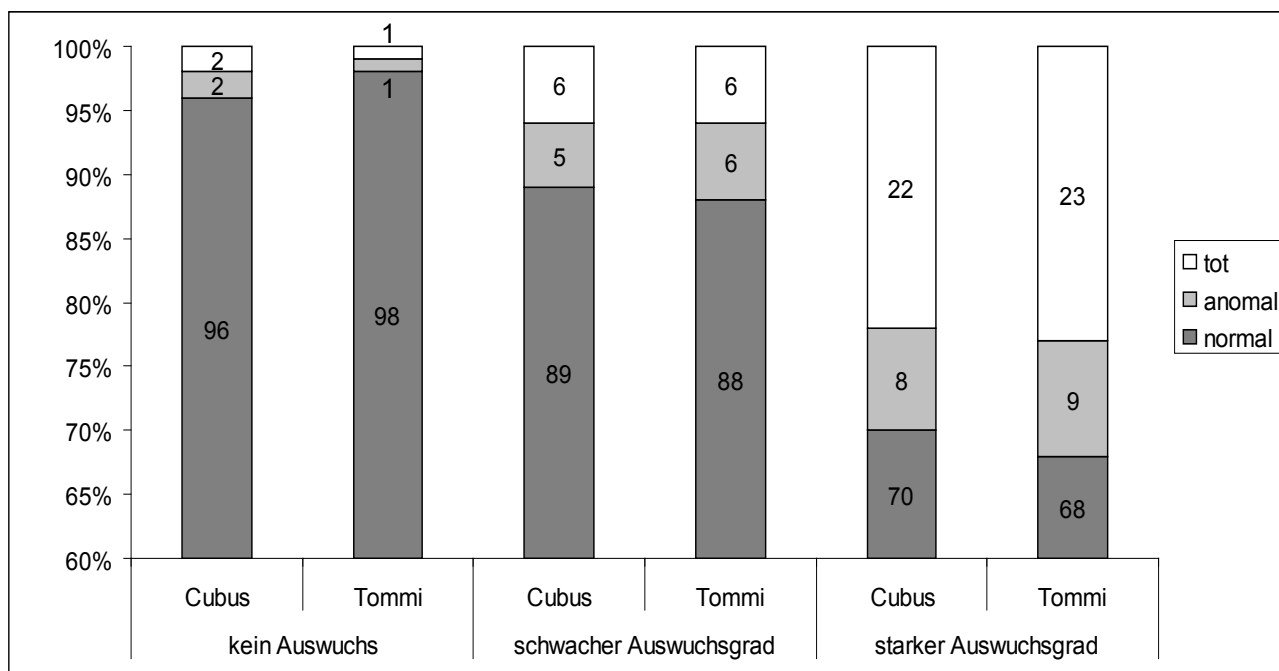


Abbildung 6: Ergebnisse der Keimfähigkeitsprüfung nach 3-monatiger Lagerung der Saatgut-Proben der mit Landor CT® gebeizten Winterweizensorten Cubus und Tommi in Abhängigkeit vom Auswuchsgrad (angesetzt „auf Sand“)

den Keimergebnissen bei allen Varianten in etwa auf gleicher Höhe liegen. Da es sich bei Auswuchs um geschädigtes Saatgut handelt hätte man deutlich niedrigere Triebkrafteergebnisse unter den erschwerten Keimbedingungen erwartet. Ähnlich verhält es sich bei der Lebensfähigkeitsprüfung (Abbildung 5).

Auf Grund der Auswuchsschädigung hätte man im Vergleich mit den Werten aus der Keimprüfung deutlich niedrigere Lebensfähigkeitswerte erwartet, was jedoch nicht eingetroffen ist. Um Aussagen über die Keimfähigkeit von auswuchsgeschädigtem Winterweizen nach längerer Lagerungsdauer treffen zu können, wurde die Keimprüfung auf Sand nach 3 Monaten wiederholt. Die Keimergebnisse (Abbildung 6) bei nicht ausgewachsenem und schwach ausgewachsenem Saatgut waren mit den jeweiligen Werten vor der Lagerung vergleichbar. Die stark ausgewachsenen

Proben fielen in der Keimfähigkeit um rund 10% ab.

### Zusammenfassung und Folgerungen für die Praxis

- Durch die geringen Sortenunterschiede bei Auswuchs zeigen sich keine Unterschiede im Keimverhalten der Sorten.
- Bei der Keimprüfung von Auswuchssaatgut bestehen bezüglich der Keimprüfungsverfahren keine statistisch gesicherten Unterschiede (MILES 1963).
- Die Triebkraft von schwach ausgewachsenem Saatgut liegt nur knapp unter der Keimfähigkeit.
- Durch Beizung lässt sich die Keimfähigkeit bei ausgewachsenem Weizen Saatgut fast immer verbessern.
- Nach 3 Monaten Lagerung sind bei stark ausgewachsenem Saatgut deutliche Keimverluste festzustellen.

### Literatur

- BUNDESSORTENAMT, 2007: Beschreibende Sortenliste Getreide, Mais, Ölfrüchte, Leguminosen, Hackfrüchte, ISSN 0948-4167.
- FUCHS, H., 1964: Saatgutwert von Auswuchsgetreide und die Möglichkeit seiner Beurteilung im Labortest. Dissertation, Technische Hochschule München.
- FUCHS, H., 1997: Der Erd-Kalttest als Triebkraftprüfung; Möglichkeiten und Grenzen seines Einsatzes in der praktischen Saatgutprüfung. VDLUFA Schriftenreihe 46, 87-90.
- ISTA (International Seed Testing Association), 2007: International Rules for Seed Testing (Internationale Vorschriften für die Prüfung von Saatgut). Zürich, Schweiz.
- MILES, J.R., 1963: Handbook of tolerances and of measures of precision for seed testing, Proc. Int. Seed. Test. Ass. 28.
- VOIT, B., H. FUCHS, 2000: Der Kalttest von Saatgut im Ökologischen Landbau. Schule und Beratung, Heft 05, Seite IV 11-13.



# Aktueller Forschungsstand zur Zuchtwertschätzung in der Pflanzenzüchtung

A.M. BAUER und J. LÉON

## Einleitung

Das Ziel von Züchtung ist es, Individuen „genetisch so zu verändern, dass sie besser an die Bedürfnisse des Menschen angepasst sind“ (BECKER 1993). Dabei werden diejenigen Individuen aus einer Population ausgewählt, deren Nachkommen in ihren Leistungen dem Zuchtziel näher sind als die Elterngeneration (ESSL 1996). Zuchtziele in der Pflanzenzüchtung können zum Beispiel die Steigerung des Ertrages, die Verbesserung der Qualität oder die Erhöhung der Krankheitsresistenz sein.

Um diese Zuchtziele zu erreichen, beurteilt der Pflanzenzüchter vielversprechende Genotypen in mehrortigen und -jährigen Feldversuchen überwiegend anhand ihrer phänotypischen Leistungen. Insbesondere, wenn unbalancierte Datensätze vorhanden sind, das heißt, dass zum Beispiel nicht alle zu prüfenden Nachkommen auch an allen Standorten angebaut worden sind und bei Merkmalen mit niedriger Heritabilität und daraus resultierendem hohem Umwelteinfluss basiert eine phänotypische Selektion auf einer eingeschränkten Aussage über den Genotyp und damit den Zuchtwert eines Individuums oder eines Stammes. In diesem Fall ist es schwierig, Leistungen, die unter verschiedenen Umweltbedingungen (z.B. auf verschiedenen Standorten) und zu unterschiedlichen Zeiten erbracht worden sind, zu vergleichen (BERNARDO 2002).

Eine richtige Selektionsentscheidung kann also nur dann getroffen werden, wenn der Genotyp möglichst gut bekannt ist. Eine Methode, mit der man die genetische Disposition eines Individuums beurteilen kann und die in der Tierzüchtung standardmäßig eingesetzt wird, ist die Zuchtwertschätzung. Die Zuchtwertschätzung ist dadurch charakterisiert, dass sie den Wert eines Individuums, den es für die Zucht besitzt, anhand von

Phänotypdaten des jeweiligen Individuums selbst und unter Einbeziehung der Leistungen von Verwandten schätzt. Außerdem werden unterschiedliche Umweltverhältnisse berücksichtigt. Um eine hohe Schätzgenauigkeit zu erzielen, ist es üblich, Zuchtwerte mit BLUP-Eigenschaften zu schätzen, wobei BLUP für „Best Linear Unbiased Prediction“ steht. So soll die genetische Veranlagung eines Individuums möglichst genau erkannt und infolgedessen die Effizienz der Selektion erhöht werden (COMBERG 1980).

In verschiedenen Forschungsarbeiten konnte mittlerweile gezeigt werden, dass die Zuchtwertschätzung auch in der Pflanzenzüchtung zu einer Steigerung des Selektionserfolges führen kann. In diesem Beitrag soll ein Überblick über relevante Studien in der Pflanzenzüchtung gegeben werden. Dabei wurden nur Studien ausgewählt, bei denen die Durchführung der Zuchtwertschätzung mit Hilfe von Stammbauminformationen im Vordergrund stand.

Im Folgenden sollen zuerst vegetative Kulturarten vorgestellt werden, da hier die Bedingungen für die Zuchtwertschätzung am ähnlichsten zu der Situation in der Tierzüchtung sind, so dass das statistische Modell mit wenigen Änderungen übernommen werden kann. Anschließend soll auf generativ vermehrte Kulturarten, nämlich Fremd- und Selbstbefruchter eingegangen werden. Insbesondere bei Selbstbefruchtern müssen der hohe Inzuchtgrad und die starken Änderungen in der Bedeutung der Dominanzvarianz in frühen Kreuzungsgenerationen im statistischen Modell der Zuchtwertschätzung berücksichtigt werden.

*Tabelle 1* gibt einen Literaturüberblick zum Einsatz der Zuchtwertschätzung in der Pflanzenzüchtung, wobei der Schwerpunkt auf Studien gelegt wurde, in denen Stammbauminformationen berücksichtigt wurden.

## Vegetativ vermehrte Fruchtarten

ARAÚJO et al. (1996) untersuchten geklonte Eltern und deren Nachkommen von Eukalyptus (*Eucalyptus globulus*). Das Klonen der Eltern führte zu einer Verbesserung der geschätzten Zuchtwerte, da mehrere Klone eines Elters als Wiederholungen betrachtet werden können. COSTA E SILVA et al. (2004) beschäftigten sich ebenfalls mit Eukalyptus und berechneten Zuchtwerte für Vollgeschwisterfamilien. Uni- und multivariate statistische Modelle wurden in der Zuchtwertschätzung von Norwegischen Rottannen [*Picea abies* (L.) KARST.] verwendet, um anhand von Leistungsdaten von Kreuzungsnachkommen Zuchtwerte für die Eltern zu schätzen (COSTA E SILVA et al. 2000). Die Abstammungsinformationen wurden hier genutzt, um die Daten von verschiedenen Kreuzungsdesigns miteinander zu verbinden. DA COSTA et al. (2002) setzten ebenfalls uni- und multivariate Modelle in Halbgeschwisterfamilien vom Kautschukbaum [*Hevea brasiliensis* (Willd. ex A.D. de Juss.) Muell.-Arg.] ein. Dabei wurde jedes einzelne Experiment mit Hilfe eines univariaten Modells ausgewertet. Im multivariaten Modell wurde dasselbe Merkmal an verschiedenen Standorten als unterschiedliche Merkmale definiert. Einen geostatistischen Ansatz wählten DAVIK und HONNE (2005) in der Zuchtwertschätzung von Vollgeschwister-Familien bei Erdbeere (*Fragaria x ananassa* Duch.). Bei Hybriden zwischen apomiktischen und autotetraploiden Individuen von Guinea Gras (*Panicum maximum*) konnten RESENDE et al. (2004) zeigen, dass durch die Selektion anhand von Zuchtwerten vorteilhafte Eltern und Kreuzungskombinationen erkannt werden konnten. In der Selektion von vorteilhaften Eltern anhand von Nachkommendaten bei Pfirsich [*Prunus persica* (L.) Batsch (Peach Group)] fanden DE SOUZA et al. (2000)

**Autoren:** Dr. Andrea M. BAUER und Prof. Dr. Jens LÉON, Institut für Nutzpflanzenwissenschaften und Ressourcenschutz, Professur für Pflanzenzüchtung, Rheinische Friedrich-Wilhelms-Universität Bonn, Katzenburgweg 5, D-53115 BONN, a.bauer@uni-bonn.de

**Tabelle 1: Literaturüberblick zum Einsatz der Zuchtwertschätzung in der Pflanzenzüchtung (FB = Fremdbefruchter, SB = Selbstbefruchter)**

Quelle	Fruchtart	Vermehrung	Population
ARAÚJO et al. (1996)	Eukalyptus ( <i>Eucalyptus globulus</i> )	Vegetativ	150 geklonte Eltern und Kreuzungsnachkommen
DUREL et al. (1998)	Apfel ( <i>Malus domestica</i> )	Vegetativ	Gesamter Stammbaum mit 213 Familien
COSTA E SILVA et al. (2000)	Norwegische Rottanne [ <i>Picea abies</i> (L.) KARST.]	Vegetativ	Daten von Nachkommen wurden genutzt, um Zuchtwerte für 90 Eltern zu schätzen
DE SOUZA et al. (2000)	Pfirsich [ <i>Prunus persica</i> (L.) Batsch (Peach Group)]	Vegetativ	Daten von Nachkommen wurden genutzt, um Zuchtwerte für 28 Eltern zu schätzen
DA COSTA et al. (2002)	Kautschukbaum [ <i>Hevea brasiliensis</i> (Willd. ex Adr. de Juss.) Muell.-Arg.]	Vegetativ	22 Halbgeschwister-Familien
COSTA E SILVA et al. (2004)	Eukalyptus ( <i>Eucalyptus globulus</i> )	Vegetativ	75 bis 78 Vollgeschwister-Familien
RESENDE et al. (2004)	Guinea Gras ( <i>Panicum maximum</i> )	Vegetativ	79 Hybriden aus pomiktischen und autotetraploiden Individuen
DAVIK und HONNE (2005)	Erdbeere ( <i>Fragaria x ananassa</i> Duch.)	Vegetativ	Vollgeschwister-Familien
SOH (1994)	Ölpalme ( <i>Elaeis guineensis</i> , Jacq.)	Generativ (FB)	Daten von Nachkommen wurden genutzt, um Zuchtwerte für Eltern zu schätzen
PURBA et al. (2001)	Ölpalme ( <i>Elaeis guineensis</i> , Jacq.)	Generativ (FB)	401 Hybriden
BERNARDO (1994-1999)	Mais ( <i>Zea mays</i> L.)	Generativ (FB)	Hybriden
CHARCOSSET et al. (1998)	Mais ( <i>Zea mays</i> L.)	Generativ (FB)	210 Hybriden
BROMLEY et al. (2000)	Mais ( <i>Zea mays</i> L.)	Generativ (FB)	Inzuchtlinien
FLACHENECKER et al. (2006a, b)	Mais ( <i>Zea mays</i> L.)	Generativ (FB)	Rekurrentes Selektionsschema einer F <sub>2</sub> -Population mit 120 Vollgeschwistern
PANTER und ALLEN (1995a)	Sojabohne [ <i>Glycine max</i> (L.) Merr.]	Generativ (SB)	25 Elternlinien mit Kreuzungsnachkommen
PANTER und ALLEN (1995b)	Sojabohne [ <i>Glycine max</i> (L.) Merr.]	Generativ (SB)	Nachkommen aus 24 Kreuzungen
XU und VIRMANI (2000)	Reis ( <i>Oryza sativa</i> L.)	Generativ (SB)	66 F <sub>1</sub> -Hybridlinien
PATTEE et al. (2001)	Erdnuss ( <i>Arachis hypogaea</i> L.)	Generativ (SB)	250 Elternlinien
CROSSA et al. (2006)	Weizen ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Generativ (SB)	29 Elternlinien
Oakey et al. (2006)	Weizen ( <i>Triticum aestivum</i> L.)	Generativ (SB)	259 Elternlinien
BAUER et al. (2006, 2007), BAUER und LÉON (2007)	Gerste ( <i>Hordeum vulgare</i> L.)	Generativ (SB)	152-500 Elternlinien

heraus, dass eine höhere Anzahl an Nachkommen in der Zuchtwertschätzung zu einer besseren Schätzgenauigkeit führte. Aus diesem Grund nutzten DUREL et al. (1998) sämtliche Stammbauminformationen in der Zuchtwertschätzung von Apfel (*Malus domestica*). Die erhaltenen Zuchtwerte waren für zukünftige Züchtungsstrategien informativer als alle anderen mit bisher verwendeten Standardmethoden ermittelten Werte.

## Generativ vermehrte Fruchtarten

### a) Fremdbefruchter

SOH (1994) erstellte ein Ranking von Eltern in Ölpalme (*Elaeis guineensis*, Jacq.) basierend auf den Daten von Kreuzungsnachkommen. Ebenfalls in Ölpalme schätzten PURBA et al. (2001) für die durchschnittliche Leistung von Hybriden Zuchtwerte. Anhand der Zuchtwerte wurden anschließend die Hybriden, die in den nächsten Selektionszyklus fortgeführt werden sollen, ausgewählt. In der Hybridzüchtung von Mais (*Zea mays*

L.) wurden von BERNARDO (1994, 1995, 1996a,b,c,d, 1997, 1998a,b, 1999) zahlreiche Studien durchgeführt. Der Autor konnte zeigen, dass mit Hilfe der Zuchtwertschätzung die Leistung von Maiskreuzungen vor der Durchführung von Feldversuchen abgeschätzt werden konnte (BERNARDO 1996a). Auch können basierend auf den Leistungsdaten der bereits in Feldversuchen getesteten Hybriden die Leistungen von noch ungetesteten Hybriden geschätzt werden (BERNARDO 1996c). Die Schätzung von Zuchtwerten mit BLUP-Eigenschaften zeigte sich auch dann robust, wenn fehlerhafte Stammbauminformationen der Inzuchtlinien vorlagen (BERNARDO 1996b). Die Nicht-Berücksichtigung von Abstammungsinformationen in der Zuchtwertschätzung führt dagegen zu einer Verringerung der genetischen Varianz bei Mais-Inzuchtlinien (BROMLEY et al. 2000). BUENO und GILMOUR (2003) fanden außerdem heraus, dass es bei der Auswahl des Designs in Feldversuchen eine große Rolle spielt,

ob Abstammungsinformationen in die Zuchtwertschätzung einbezogen werden oder nicht. Denn Designs, die bei nicht verwandten Individuen optimal sind, sind suboptimal bei verwandten Individuen. Bei Merkmalen, die stark von Dominanzeffekten beeinflusst werden, resultierte die Einbeziehung von Dominanzeffekten in das statistische Modell der Zuchtwertschätzung in einer höheren Schätzgenauigkeit (BERNARDO 1996d). Allerdings führte eine Berücksichtigung von additiv x additiven epistatischen Effekten zu keiner Erhöhung des Selektionserfolges (BERNARDO 1995). BERNARDO (1994, 1997, 1998a,b, 1999) untersuchten auch, ob der Einsatz von RFLP-Markerdaten in der Zuchtwertschätzung zu einem Effizienzgewinn führt. Der Autor konnte zeigen, dass die Integration von Markerdaten dann sinnvoll ist, wenn das Merkmal durch wenige QTLs kontrolliert ist. CHARCOSSET et al. (1998) nutzten in der Zuchtwertschätzung von F<sub>1</sub>-Hybriden bei Mais (*Zea mays* L.) einen ähnlichen Ansatz

wie BERNARDO (1994, 1995) und stellen fest, dass die Zuchtwertschätzung anderen Methoden überlegen war. In  $F_2$ -Vollgeschwisterfamilien eines rekurrenten Selektionsschemas bei Mais (*Zea mays* L.) konnten FLACHENECKER et al. (2006a,b) zeigen, dass Zuchtwerte, die auf der Basis der Vollgeschwisterleistung in der Generation  $C_n$  für die Folgegeneration  $C_{n+1}$  geschätzt wurden die gleiche oder eine höhere Genauigkeit hatten als Schätzwerte basierend auf der Leistung der Eltern.

### b) Selbstbefruchter

Um Zuchtwertschätzungen in der Selbstbefruchterzüchtung einsetzen zu können, müssen sowohl der hohe Inzuchtgrad der Kreuzungseltern als auch die starken Änderungen in der Bedeutung der Dominanzvarianz in frühen Kreuzungsgenerationen berücksichtigt werden. Das bedeutet, dass die Berechnung der Verwandtschaftsmatrix A und das statistische Modell angepasst werden müssen.

PANTER und ALLEN (1995a,b) führten Untersuchungen zum Einsatz der Zuchtwertschätzung bei der Sojabohne (*Glycine max* (L.) Merr.) durch. Die Autoren stellten fest, dass mit Hilfe der Zuchtwertschätzung mehr vorteilhafte Kreuzungen detektiert werden konnten als mit anderen Selektionsmethoden. Ähnlich wie die Arbeit von PANTER und ALLEN (1995a,b) verglichen PATTEE et al. (2001) in Erdnuss (*Arachis hypogaea* L.) und XU und VIRMANI (2000) in  $F_1$ -Reishybriden (*Oryza sativa* L.) Zuchtwerte und Elternmittel miteinander. Sie stellten ebenfalls fest, dass eine Selektion anhand von Zuchtwerten überlegen ist. In allen genannten Studien wurden jedoch nicht die Inzuchtbedingungen der Kreuzungseltern berücksichtigt. Einen anderen Ansatz wählten OAKEY et al. (2006), die den hohen Inzuchtgrad in nachfolgenden Selbstungsgenerationen in Weizen-Inzuchtlinien (*Triticum aestivum* L.) bei der Berechnung der Verwandtschaftsmatrix einbezogen. Da in der Pflanzenzüchtung oft Genotyp-Umwelt-Interaktionen auftreten, integrierten CROSSA et al. (2006) bei Weizen-Inzuchtlinien (*Triticum aestivum* L.) diesen Faktor in Form eines Kronecker-Produkts mit der

Verwandtschaftsmatrix in das statistische Modell der Zuchtwertschätzung. BAUER (2006) untersuchte den Einsatz der Zuchtwertschätzung in der Selektion von sowohl Kreuzungseltern als auch Kreuzungsnachkommen und fand heraus, dass, insbesondere wenn stark unbalancierte Daten und Merkmale mit niedriger Heritabilität vorliegen, die Selektion basierend auf Zuchtwerten allen anderen Selektionsstrategien überlegen ist. In dieser Studie wurde die Inzucht der Kreuzungseltern in der Verwandtschaftsmatrix berücksichtigt. Anhand von Simulationsdaten stellten BAUER et al. (2006) fest, dass bei ungenauen oder fehlenden Abstammungsdaten zwischen Elternlinien diese Information durch genetische Ähnlichkeiten, die anhand von molekularen Markerdaten berechnet wurden, ersetzt werden können. Da durch eine geringe Anzahl an Markern die Wahrscheinlichkeit für das Auftreten von genetisch identischen Linien steigt und damit die Matrix mit den genetischen Ähnlichkeiten singular werden kann, berechneten BAUER et al. (2007) bei Gerste (*Hordeum vulgare* L.) Eigenvalues der genetischen Ähnlichkeiten, die anschließend wieder rücktransformiert wurden. Die Autoren kamen zu ähnlichen Zuchtwerten wie bei einer direkten Einbeziehung von genetischen Ähnlichkeiten. Uni- und multivariate Modelle wurden von BAUER und LÉON (2007) bei verschiedenen Merkmalen mit unterschiedlich stark ausgeprägter Korrelation untersucht. Der Einsatz eines multivariaten Modells war besonders bei negativ korrelierten Merkmalen vorteilhaft.

### Fazit

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass in den meisten Studien zur Zuchtwertschätzung in der Pflanzenzüchtung die Überlegenheit einer Selektion anhand von Zuchtwerten über herkömmliche Selektionsstrategien nachgewiesen werden konnte. Es besteht jedoch noch weiterer Forschungsbedarf, um die Schätzung von Zuchtwerten auch in sehr großen, komplexen Pflanzenpopulationen einsetzen zu können. Weiterhin sind in der Praxis bei der Integration der DNA-Markerdaten in die Zuchtwertschätzung noch Probleme vorhanden. Außerdem sollte der Einsatz

der Zuchtwertschätzung auch in partiell-allogamen Kulturarten und in Populationsarten untersucht werden.

### Literatur

- ARAÚJO, J.A., R. SOUSA, L. LEMOS und N.M.G. BORRALHO, 1996: Estimates of genetic parameters and prediction of breeding values for growth in *Eucalyptus globulus* combining clonal and full-sib progeny information. *Silvae Genetica* 45:223-226.
- BAUER, A.M., 2006: BLUP-Zuchtwertschätzung bei selbstbefruchtenden Getreidearten unter Berücksichtigung aller Verwandtschaftsinformationen und der Inzuchtverhältnisse. Diss. Uni Bonn.
- BAUER, A.M., T.C. REETZ und J. LÉON, 2006: Estimation of breeding values of inbred lines using best linear unbiased prediction (BLUP) and genetic similarities. *Crop Sci.* 46:2685-2691.
- BAUER, A.M. und J. LÉON, 2007: Multiple-trait breeding values for parental selection in self-pollinating crops. *Theor. Appl. Genet.* (OnlineFirst).
- BAUER, A.M., T.C. REETZ und J. LÉON, 2007: Predicting breeding values of spring barley accessions by using the singular value decomposition of genetic similarities. *Plant Breeding* (in press).
- BECKER, H., 1993: Pflanzenzüchtung. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- BERNARDO, R., 1994: Prediction of maize single-cross performance using RFLPs and information from related hybrids. *Crop Sci.* 34:20-25.
- BERNARDO, R., 1995: Genetic Models for Predicting maize single-cross performance in unbalanced yield trial data. *Crop Sci.* 35:141-147.
- BERNARDO, R., 1996a: Best linear unbiased prediction of the performance of crosses between untested maize inbreds. *Crop Sci.* 36:872-876.
- BERNARDO, R., 1996b: Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance. *Crop Sci.* 36:50-56.
- BERNARDO, R., 1996c: Best linear unbiased prediction of maize single-cross performance given erroneous inbred relationship. *Crop Sci.* 36:862-866.
- BERNARDO, R., 1996d: Testcross additive and dominance effects in best linear unbiased prediction of maize single-cross performance. *Theor. Appl. Genet.* 93:1098-1102.
- BERNARDO, R., 1997: RFLP markers and predicted testcross performance of maize sister inbreds. *Theor. Appl. Genet.* 95:655-659.
- BERNARDO, R., 1998a: A model for marker-assisted selection among single crosses with multiple genetic markers. *Theor. Appl. Genet.* 97:473-478.
- BERNARDO, R., 1998b: Predicting the performance of untested single crosses: trait and marker data. In: Lamkey K.R. und J.E. Staub (eds): Concepts and breeding of heterosis in crop plants. 117-127. *Crop Science Society of America, Madison, Wisconsin, USA.*

- BERNARDO, R., 1999: Marker-assisted best linear unbiased prediction of single-cross performance. *Crop Sci.* 39:1277-1282.
- BERNARDO, R., 2002: *Breeding for Quantitative Traits in Plants*. Stemma Press, Woodbury, Minnesota.
- BROMLEY, C.M., L.D. VAN VLECK, B.E. JOHNSON und O.S. SMITH, 2000: Estimation of genetic variance in corn from F1 performance with and without pedigree relationships among inbred lines. *Crop Sci.* 40:651-655.
- BUENO, J.S.S. und S.G. GILMOUR, 2003: Planning incomplete block experiments when treatments are genetically related. *Biometrics* 59:375-381.
- CHARCOSSET, A., B. BONNISSEAU, O. TOUCHEBEUF, J. BURSTIN, P. DUBREUIL, Y. BARRIÈRE, A. GALLAIS und J.-B. DENIS, 1998: Prediction of maize hybrid silage performance using marker data: comparison of several models for specific combining ability. *Crop Sci.* 38:38-44.
- COMBERG, G., 1980: *Tierzüchtungslehre*. 3. Aufl., Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart.
- COSTA E SILVA, J., H. WELLENDORF und N.M.G. BORRALHO, 2000: Prediction of breeding values and expected genetic gains in diameter growth, wood density and spiral grain from parental selection in *Picea abies* (L.) KARST. *Silvae Genetica* 49:102-109.
- COSTA E SILVAM, J., N.M.G. BORRALHO und B.M. POTTS, 2004: Additive and non-additive genetic parameters from clonally replicated and seedling progenies of *Eucalyptus globulus*. *Theor. Appl. Genet.* 108:1113-1119.
- CROSSA, J., J. BURGUENO, P.L. CORNELIUS, G. MCLAREN, R. TRETOWAN und A. KRISHNAMACHARI, 2006: Modelling genotype x environment interaction using additive genetic covariance of relatives for predicting breeding values of wheat genotypes. *Crop Sci.* 46:1722-1733.
- DA COSTA, B., M.D.V. DE RESENDE, P. DE SOUZA GONCALVES und M. DE ALMEIDA SILVA, 2002: Individual multivariate REML/BLUP in the presence of genotype x environment interaction in rubber tree (*Hevea*) breeding. *Crop Breeding and Applied Biotechnology* 2:131-140.
- DAVIK, J. und B.J. HONNE, 2005: Genetic variance and breeding values for resistance to a wind-borne disease [*Sphaerotheca macularis* (Wallr. ex Fr.)] in strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.) estimated by exploring mixed and spatial models and pedigree information. *Theor. Appl. Genet.* 111:256-264.
- DE SOUZA, V.A.B., D.H. BYRNE und J.F. TAYLOR, 2000: Predicted breeding values for nine plant and fruit characteristics of 28 peach genotypes. *J. Amer. Soc. Hort. Sci.* 125:460-465.
- DUREL, C.E., F. LAURENS, A. FOUILLET und Y. LESPINASSE, 1998: Utilization of pedigree information to estimate genetic parameters from large unbalanced data sets in apple. *Theor. Appl. Genet.* 96:1077-1085.
- ESSL, A., 1996: *Grundlagen der Zuchtwertschätzung*. Institut für Nutztierwissenschaften, Universität für Bodenkultur, 1. Seminar des genetischen Ausschusses der Zentralen Arbeitsgemeinschaft österreichischer Rinderzüchter, Wien.
- FLACHENECKER, C., M. FRISCH, K.C. FALKE, A.E. MELCHINGER, 2006a: Trends in population parameters and best linear unbiased prediction of progeny performance in a European F2 maize population under modified recurrent full-sib selection. *Theor. Appl. Genet.* 112:483-491.
- FLACHENECKER, C., M. FRISCH, J. MUMINOVIC, K.C. FALKE, A.E. MELCHINGER, 2006b: Modified full-sib selection and best linear unbiased prediction of progeny performance in a European F2 maize population. *Plant Breeding* 125:248-253.
- OAKLEY, H., A. VERBYLA, W. PITCHFORD, B. CULLIS und H. KUCHEL, 2006: Joint modeling of additive and non-additive genetic line effects in single field trials. *Theor. Appl. Genet.* 113:809-819.
- PANTER, D.M. und F.L. ALLEN, 1995a: Using best linear unbiased predictions to enhance breeding for yield in soybean: I. Choosing parents. *Crop Sci.* 35:397-405.
- PANTER, D.M. und F.L. ALLEN, 1995b: Using best linear unbiased predictions to enhance breeding for yield in soybean: II. Selection for superior crosses from a limited number of yield trials. *Crop Sci.* 35:405-410.
- PATTEE, H.E., T.G. ISLEIB, D.W. GORBET, F.G. GIESBRECHT und Z. CUI, 2001: Parent selection in breeding for roasted peanut flavor quality. *Peanut Science* 28:51-58.
- PURBA, A.R., A. FLORI, L. BAUDOUIN und S. HAMON, 2001: Prediction of oil palm (*Elaeis guineensis*, Jacq.) agronomic performances using the best linear unbiased predictor (BLUP). *Theor. Appl. Genet.* 102:787-792.
- RESENDE, R.M.S., L. JANK, C.B. VALLE und A.L.V. BONATO, 2004: Biometrical analysis and selection of tetraploid progenies of *Panicum maximum* using mixed model methods. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 39:335-341.
- SOH, A.C., 1994: Ranking parents by best linear unbiased prediction (BLUP) breeding values in oil palm. *Euphytica* 76:13-21.
- XU, W. und S.S. VIRMANI, 2000: Prediction of hybrid performance in rice: comparisons among best linear unbiased prediction (BLUP) procedure, midparent value, and molecular marker distance. *Int. Rice Res. Notes* 25:12-13.

# Is the Root System a Significant Factor when Selecting Wheat of Barley Varieties?

V. DOSTAL, O. CHLOUPEK and T. STREDA

## Introduction

Nowadays growers choose wheat and barley varieties based on their resistance to diseases or their quality parameters important for a specific processing purpose (wheat's baking quality, barley's quality raw material for malt production etc.), and primarily according to the yield.

The root system is necessary for a plant's nutrients and water intake. However, it is not clear what the root system size should be in relation to the yield and environmental conditions. The continental nature of the middle Europe's climate is typical of irregular distribution of precipitation coupled with frequent dry spells on the majority of vegetation. Therefore, it is important to pay appropriate attention to the root system.

In the field conditions, it is not easy to estimate the root system size (RSS) without causing harm to the plants. We managed (CHLOUPEK 1977) to work out a root system size evaluation method by using the means of the root system's electrical capacity. This capacity is measured in relation to the soil in which the roots are growing. The evaluation method is considered prospective by DALTON (1995). Moreover, it was proven useful for the evaluation of maize (BEEM et al. 1998), apple trees (PSARRAS and MERWIN 2000), and poplar trees (PRESTON et al. 2004). The method enabled us to locate five quantitative traits loci (QTL) for the barley's root system size, some of which are related to the yield of the grain (CHLOUPEK et al. 2006).

## Methods

The size of the winter wheat and spring barley's root system is measured in the course of three vegetation phases - shooting, heading, grain filling on two localities (Hrubčice, Želešice). 20 varieties in 4 repetitions are assessed on each locality.

The plants were sowed in spacing of 10 x 10 cm, there are 10 plants in each row. We use 6 middle plants from the rows for the RSS estimation. The electrical capacity is measured in nanofarads (nF) by the means of a measuring device called LCR METER ECL 131 D.

## Results

The relation between the RSS and the gene for general resistance to *Blumeria graminis* and the spring barley semi-dwarf gene was found by the means of genetic mapping. On the third chromosome, there were genes for a greater RSS in one locus in linkage to the semi-dwarf gene *swd 1*. On the fourth chromosome, there was one locus for a smaller RSS very close to the gene (*mlo*) for general resistance to *Blumeria graminis*. The malting quality of double-haploid lines (DH) was also influenced by a greater RSS. As for the selected malting quality parameters, the great RSS lines had higher extract content by 0.98% and higher sugar extract from malt by 1.55%, however the relative extract was lower by 3.80% etc..

In 2007, the root system size of wheat was affected primarily by the locality (83-86%) - the varieties' average values were smaller in Želešice than in Hrubčice where higher doses of nitrogen were applied (130 kg.ha<sup>-1</sup>). Additionally, the varieties were highly significant sources of variability and participated by 8-10% of the whole variability of the acquired data. The interaction of the varieties with localities was significant only during the flowering phase when it shared 4% of the whole variability.

Furthermore, we confronted the root system size with the baking quality of varieties (E - superior, A - high quality, B - normal quality and C - feed grain). The lowest quality varieties had conclu-

sively greater RSS than the E, A and B groups of baking varieties. No significant differences between E, A and B groups were found. In the group of superior varieties, the *Akteur* variety had a greater RSS (in all three terms) than the average value of all twenty monitored varieties. During the heading time, it was even greater than the average values of all group C varieties.

## Conclusion

The root system size (RSS) of spring barley was influenced predominantly by the environment (42-81%). However, it was also affected by the variety (7.9-11.2%) and additionally, it had an effect on the malting quality (higher extract content etc.). The preliminary results acquired on two localities have proven that twenty winter wheat varieties significantly differed in RSS. The varieties' percentage of the whole variability was 8-10%, so it provides a sufficient variability for a effective breeding for a greater RSS. Low baking quality was connected to a greater RSS.

## Acknowledgement

The research was supported by Ministry of Education (MSM6215648905) and Grant Agency of Czech Republic (521/05/H013).

## References

- BEEM, J. Van a kol., 1998: Estimating root mass in maize using a portable capacitance meter, *Agronomi Journal* 90: 566-570.
- DALTON, F.N., 1995: In-situ root extent measurement by electrical capacitance methods. *Plant Soil*. 173: 157-165.
- CHLOUPEK, O., 1977: Evaluation of size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant Soil* 48: 525-532.
- CHLOUPEK, O., B.P. FORSTERb and W.T.B. THOMAS, 2006: The effect of semi-dwarf

**Autoren:** Ing. Vitezslav DOSTAL V., O. CHLOUPEK and T. STREDA, Mendel University of Agriculture and Forestry, Zemedelska 1, CZ-61300 BRNO, dostalvita@seznam.cz

- genes on root system size in field grown barley. *Theoretical and Applied Genetics* 112: 779-786.
- CHLOUPEK, O., 2006: Kořenový systém ječmene, *Úroda* 10: 10-11, ISSN 0139-6013.
- PRESTON, G.M. et al., 2004: Estimating root mass in young poplar trees using the electrical capacitance method. *Agroforestry Systems* 60: 305-309.
- PSARRAS, G. and I.A. MERWIN, 2000: Water stress affects rhizosphere rates and root morphology of young Mutsu apple trees on M.9 and M.111 rootstocks. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 125: 588-595.

# Different barley cultivars as a source of green mass for improving nutrient balance in human diet

J. EHRENBERGEROVÁ, K. VACULOVÁ, I. PAULÍČKOVÁ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI, S. MACUCHOVÁ, J. KOPÁČEK, D. GABROVSKÁ, M. HOLASOVÁ, J. OUHRABKOVÁ, J. RYSOVÁ, V. FIEDLEROVÁ, R. WINTEROVÁ and S. HORÁČKOVÁ

## Abstract

Human diet enriched with young parts of plants (so called „green foods“) can help to improve the balance of the nutrient intake in a natural way. Different selected nutrients (vitamins C and E, total polyphenols, ferulic acid, monosaccharides, activity of superoxide dismutase and catalase, chlorophyll) and minerals (N, P, K, Ca, Mg, B, Cu, Zn, Fe and Mn) were analysed in barley green mass, cut from 3 spring barley materials (malting cultivars Sebastian and Malz and candivar KM1910 with hulless grain) in two defined growth phases (DC 29 and DC 31 by Zadoks) in the years 2005-2007. Results obtained indicate that the contents of nutritional substances are strongly dependent on the growth phase; the influence of the barley genotype (cultivar) and the growth site (locality) are discussed.

## Introduction

Diet enriched with so-called „green foods“, i.e. fresh or delicately preserved food of plant origin can help to improve the balance of the nutrient intake in a natural way. Young plant parts are characterized by increased contents of phytonutrients - vitamins, provitamins, antioxidants, and other bioactive substances with protective functions in the humans. Research conducted in the USA and Japan has shown that extracts from young cereal leaves (green mass, taken in the clearly defined growth phases) have marked effects on a number of health disorders including excessive cholesterol levels, blood pressure, immune response and cancer prevention (NISHIYAMA et al. 1994, SHIBAMOTO et al. 1994). The barley grass acts as a free radical scavenger that also reduces inflammation

and pain. An extraordinary feature of products derived from young barley is their well-established ability to degrade organophosphate pesticides (DURHAM et al. 1999).

Barley green mass is a rich source of chlorophyll, source of antioxidants, the most important being o-glycosyl isovitexin, superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), vitamins E and C and carotenoids. It also contains significant quantities of macro- and microelements, such as calcium, copper, iron, magnesium, potassium, zinc, etc., and other important nutrient compounds e.g. folate, pantothenic acid, vitamins B1, B2, B6 (ARUOMA and HALLIWELL 1987, KITTA et al. 1992, OSAWA et al. 1992, ACAR et al. 2001, LEE et al. 2003 and others).

However, the nutrients content depends on the growing site, soil quality, climatic conditions, particularly average rainfall, harvest technique (DROUSHIOTIS 1984), and processing of green mass. It is known that the highest concentrations of nutrients are present in the green mass during short period of the vegetation and that the nutrient profiles of green cereal plants change quickly as they grow.

The main aim of our study was to evaluate the contents of the selected nutritional parameters of the green mass taken from different cultivars of barley, cut in two growth phases, grown under various soil and climatic conditions of the Czech Republic.

## Materials and Methods

### Materials

Three spring barley materials, malting cultivars Sebastian and Malz with hulled grain and a new barley candivar KM1910

with hulless grain were grown in two experimental locations Kromeriz (KM) and Zabcice (ZB), under restricted chemical inputs in the period of 2005-2007. Analytical determination of selected nutrients was carried out in two terms of barley green mass samplings, cut in the defined growth phases: sampling I at growth phase DC 29 and sampling II at growth phase DC 31 (ZADOKS 1974).

### Methods

According to the characteristics of the individual substances determined, the samples were analyzed either immediately after harvest - DM (%), chlorophyll and its components - „a“ and „b“ (mg.g<sup>-1</sup>), vitamin C (mg.100g<sup>-1</sup>), activity of vitamin E (and contents of its isomers - alpha-, beta + gama, and delta-tocopherols, T - mg.kg<sup>-1</sup>), activity of superoxide dismutase and catalase (U.g<sup>-1</sup>) or after freezing - ferulic acid (mg.100g<sup>-1</sup>), folates (µg.g<sup>-1</sup>). Macroelements (N, P, K, Ca and Mg - %), microelements (B, Cu, Zn, Fe and Mn - mg.kg<sup>-1</sup>) and ash (%) were also determined.

Dry matter was determined using the gravimetric method (DAVÍDEK et al. 1981), content of chlorophyll with the spectrophotometric method (FRÉBORT et al. 1992). Ascorbic acid was determined by titration with 2,6-dichlorophenolindophenol (ČSN ISO 6557/2 Method A). Principle of the assessment of vitamin E content and its isomers is alkaline saponification and extraction of nonsaponified portion of the sample with diethyl ether with subsequent determination using the HPLC method with fluorescent detection.

Phenolic compounds were quantified with the RP HPLC method (ORSÁK et al. 2000).

**Autoren:** Ass. Prof. Jaroslava EHRENBERGEROVÁ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI and J. KOPÁČEK, Mendel University of Agriculture and Forestry BRNO, Czech Republic, ehren@mendelu.cz; K. VACULOVÁ and S. HORÁČKOVÁ, Agricultural Research Institute Kromeriz, Ltd. and Agrotest Fyto, Ltd., KROMĚŘÍŽ, Czech Republic; I. PAULÍČKOVÁ, D. GABROVSKÁ, M. HOLASOVÁ, J. OUHRABKOVÁ, J. RYSOVÁ, V. FIEDLEROVÁ, R. WINTEROVÁ, Food Research Institute PRAGUE, Czech Republic, S. MACUCHOVÁ, Research Institute of Brewing and Malting, PLC, Malting Institute BRNO, Czech Republic

The enzyme activity of superoxide dismutase (SOD) was assessed using the kit Ransod after its modification for the plant material (BELCREDIOVÁ et al. 2006). To assess the activity of catalase (CAT), a spectrophotometric method based on the measurement of the drop of absorbance at 240 nm was used (BERGMEYER 1970).

Folates were assayed as 5-methyltetrahydrofolate (main representative of natural folates in plant materials). The determination of 5-methyltetrahydrofolate (5-MTHF) was performed by the RP HPLC method after thermal and enzymatic hydrolysis and purification of the samples using SPE, modified for releasing folates from food matrix (HOLASOVÁ et al. 2004).

Nitrogen was measured on an instrument from the company Leco (Dumas method), contents of macroelements by spectrophotometric method (P), AAS method (Ca, Mg), AES method (K - the samples were prepared by mineralisation according to Kjeldahl) and total ash was measured after sample combustion (ZBÍRAL 1994, JAVORSKÝ 1987, JAVORSKÝ and KREČMER 1987).

## Results and Discussion

Barley is apparently the only commonly grown cereal, the caryopsis of which contains vitamin E in all eight isoforms of tocopherols and tocotrienols (PRÝMA et al. 2007). But in the green mass, compared to barley grain, we have detected any tocotrienols - only tocopherols were found. On contrary to our expectations, we have found on the

**Table 1: Mean values and the significance of the differences in selected phytonutrients**

Item	CAT <sup>1)</sup>		SOD		FA		Folates	
	mean	signif.	mean	signif.	mean	signif.	mean	signif.
Cultivars								
Malz	631,4	a <sup>2)</sup>	416,4	a	128,2	a	158,9	a
KM1910	684	b	418,1	a	325,7	b	155,9	a
Sebastian	718,5	b	486,3	b	401,3	c	176,7	b
Years								
2005	600,3	a	382,1	a	N	-	N	-
2006	824,6	b	460,7	b	195,6	a	180,3	b
2007	608,9	a	477,9	c	374,5	b	147,4	a
Localities								
Kromeriz	663,4	a	362,8	a	349,7	b	188,4	a
Zabcice	692,6	a	517,7	b	220,4	a	139,3	b
Samplings								
DC 29	883,6	b	464,3	b	327,9	b	142,9	a
DC31	502,4	a	416,3	a	242,2	a	184,8	b

<sup>1)</sup> see Materials and Methods; CAT = catalase, SOD = superoxidismutase, FA = ferulic acid

<sup>2)</sup> means in the same column with the different letters differ significantly at P<0.05, N - no data

base of the chemical analyses, that only ferulic acid (FA) was present of all the phenolic compounds analyzed (catechine, epicatechine, caffeic, chlorogenic and ferulic acids).

In accordance with literature, the mean values of the analysed phytonutrients in the green barley mass were relatively high: CAT - 677 U.g<sup>-1</sup>, SOD - 338 U.g<sup>-1</sup>, Vitamin E - 67 mg.kg<sup>-1</sup>, FA - 284 mg.100g<sup>-1</sup>, Vitamin C - 309 mg.100g<sup>-1</sup>, folates - 163 mg.100 g<sup>-1</sup> and total chlorophyll - 1.93 mg.g<sup>-1</sup>.

The cultivars differed in the levels of the assessed phytonutrients; the cultivar Sebastian exhibited statistically significantly higher mean values of activity of vitamin E (718.5 catalase, SOD, folates and FA in comparison with two other materials. Only in content of FA, activity of

vitamin E and content of the tocopherols mutual differences among all cultivars were highly statistically significant (*Table 1* and *Table 2*).

Comparison of results of the chemical analyses across two terms of sampling has shown, that values of all phytonutrients, with the exception of folates and chlorophyll, were significantly higher in the first sampling (i.e. DC 29), than in the second one. In individual years significant differences in mean values of all studied phytonutrients were determined.

The year 2006 (normal course of weather in spring months) was favorable for activity of catalase and vitamin E, synthesis of vitamin C and folates; for FA content and SOD activity the course of weather in 2007 was the most convenient.

**Table 2: Mean values and the significance of the differences in content of vitamins with an antioxidative effect**

Item	Vit.E <sup>1)</sup>		alpha-T		beta+gama-T		delta-T		Vit.C	
	mean	signif.	mean	signif.	mean	signif.	mean	signif.	mean	signif.
Cultivars										
Malz	61,8	a <sup>2)</sup>	59,7	a	11,6	b	1,7	a	500,8	a
KM1910	67,8	b	65,6	b	12,7	c	2,4	b	520,3	b
Sebastian	73,1	c	71,1	c	9,7	a	1,7	a	508	ab
Years										
2005	74,9	b	73,1	b	12,6	b	1,9	ab	N	-
2006	75,2	b	73,6	b	10,6	a	2,3	b	558,3	b
2007	52,6	a	49,8	a	10,8	b	1,7	a	461,2	a
Localities										
Kromeriz	68,7	a	66,2	a	11,5	a	1,8	a	477,4	a
Zabcice	66,4	a	64,7	a	11,2	a	2,1	a	542	b
Samplings										
DC 29	74,5	b	71,9	b	10,5	a	1,5	a	555,4	b
DC31	60,6	a	59,1	a	12,1	b	2,4	b	464	a

<sup>1)</sup> see Materials and Methods

<sup>2)</sup> means in the same column with the different letters differ significantly at P<0.05, N - no data



Some authors (BAMFORTH 1983, BEL-CREDIOVÁ et al. 2006) have stated, that the amount of SOD in barley grain varies in dependence on a cultivar and locality. Mean values of SOD activity from the locality ZB were significantly higher than from KM (517.7 vs. 362.8 U.g<sup>-1</sup> for ZB and KM respectively), in other three substances (FA, vitamin C and folates) locality KM showed better results. Only in the activity of CAT and vitamin E, the means between localities were not significantly different.

Contents of macroelements (N and K) in green mass were nearly double compared to grain (from 3.96 to 4.16% and from 3.25 to 3.46% for N and K respectively - Figure 1), significant differences between the varieties, however, were not found. Especially K is a mineral that tends to be lacking in the processed diet of industrial society.

Interesting dependences were observed for the content of microelements in the assessed localities. Whereas the content of Fe was significantly higher in the Kromeriz (275.6 mg.kg<sup>-1</sup>) than in Zabcice (98.4 mg.kg<sup>-1</sup>), the opposite was true for Cu (5.6 vs. 9.7 mg.kg<sup>-1</sup> for KM and ZB respectively). These results could be also adjudicated in relation to the differences, found in the mean activities of enzymes.

On the other hand, significant differences between individual cultivars were found only for mean content of Cu and Mn (Table 3).

Evaluation of experimental results showed statistically significant interactions among all sources of variability (cultivars, samplings years and localities,) in most phytonutrients studied, particularly interaction of the year with cultivar and locality.

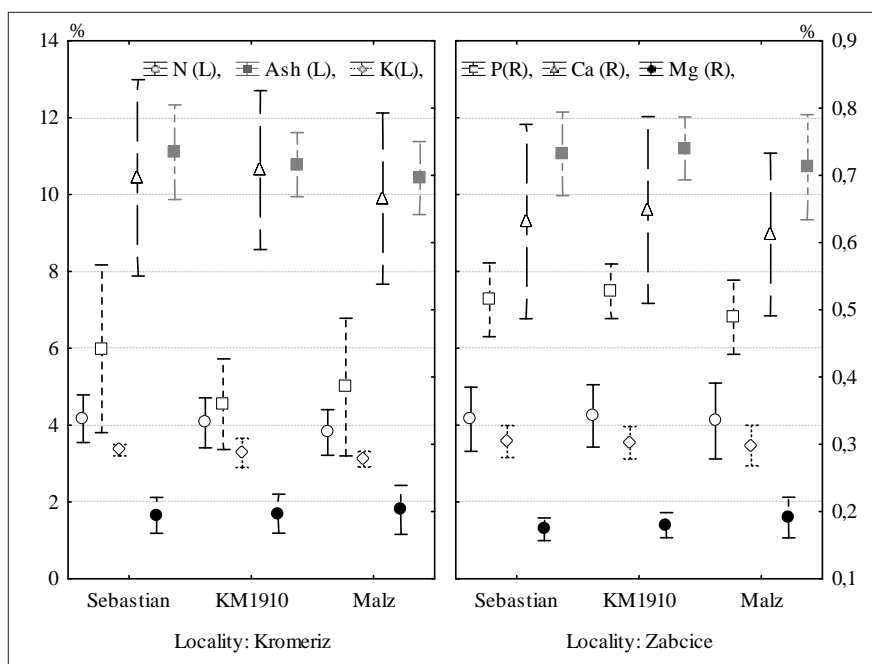


Figure 1: Variability of the macroelements contents in the cultivars (across localities)

### Conclusions

The results of the study of the selected phytonutrients content in the green barley mass confirmed significant differences on the level of the selected cultivars; however for some substances only.

In terms of concentration of most phytonutrients the first sampling (growth phase DC 29) appeared more appropriate for production of the barley „green foods“ than the second one (DC 31). Nevertheless we have to calculate on the lower content of chlorophyll and folates.

In general, all environmental factors, e.g. both years and localities, affected concentration of phytonutrients significantly.

Food supplements based on the parts of green plants have their tradition especially in the East Asian countries. In the

USA, New Zealand, and other countries the food supplements called „Barley Grass“ or „Green barley grass“ have been offered on the market.

Our results have suggested that the exact selection of the cultivars and growing localities can significantly modify nutrient profiles of the desired valuable substances in green mass. They have also revealed that green barley mass could be valuable object of the future dietary studies and processing, even in the growing conditions of the Czech Republic.

### Acknowledgements

The authors acknowledge financial support of the Czech Science Foundation, Project No. 525/05/0781 and Ministry of Education, Youth and Sports of the Czech Republic, projects 1M0570 and MSM2532885901.

### References

ACAR, O., I. TURKAN and F. OZDEMIR, 2001: Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*hordeum vulgare* L.) varieties. Acta Physiologiae Plantarum, 23: 351-356.

ARUOMA, O.I. and B. HALLIWELL, 1987: Superoxide dependent and ascorbate dependent formation of hydroxy radical from hydrogen peroxide in the presence of iron. Are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation? Biochemical Journal, 241: 273-278.

BAMFORTH, C.W., 1983: Superoxide dismutase in barley. Journal of Institute of Brewing, 89: 420-423.

Table 3: Mean content of the microelements in the barley green mass

Microelements	Items	Sebastian	Cultivars KM 1910	Malz
B	mean <sup>1)</sup>	19,5	20,1	19,3
	signif.	a <sup>2)</sup>	a	a
Cu	mean	8,1	7,4	7,4
	signif.	b	a	a
Fe	mean	203,0	187,1	170,8
	signif.	a	a	a
Zn	mean	24,4	25,1	25,5
	signif.	a	a	a
Mn	mean	38,7	39,9	35,0
	signif.	b	b	a

<sup>1)</sup> mg.kg<sup>-1</sup>, <sup>2)</sup> means in the same row with the different letters differ significantly at P<0.05

- BELCREDIOVÁ, N., J. EHRENBERGEROVÁ, P. HAVLOVÁ, 2006: Enzym superoxid dismutasa v zrnu ječmene a sladu. *Acta Universitatis Agriculturae et Silviculturae Mendelianae Brunensis*, LIV, No. 2: 7-14.
- BERGMEYER, H.V., 1970: *Methoden der Enzymatischen Analyse*. Verlag Chemie GmbH, Weinheim:273-282.
- DAVÍDEK, J., G. JANÍČEK, J. POKORNÝ, 1981: *Laboratorní příručka analýzy potravin*. SNTL-ALFA, Praha:117-185.
- DROUSHIOTIS, D., 1984: The effect of variety and harvesting stage on forage production of barley in low rainfall environments. *Journal of Agricultural Science*, 102: 287-289.
- DURHAM, J., J. OGATA, S. NAKAJIMA, Y. HAGIWARA and T. SHIBAMOTO, 1999: Degradation of organophosphorous pesticides in aqueous extracts of young green barley leaves (*hordeum vulgare* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 79: 1311-1314.
- FRÉBORT, I., A. HAVIGER, P. PEČ, 1992: *Experimentální metody biochemie, skriptum*. Přírodovědecká fakulta UP Olomouc
- HOLASOVA, M., V. FIEDLEROVA, P. ROUBAL and M. PECHACOVA, 2004: Biosynthesis of folates by lactic acid bacteria and propionibacteria in fermented milk. *Czech Journal of Food Sciences*, 22: 175-181.
- JAVORSKÝ, P., 1987: *Chemické rozbory v zemědělských laboratořích*. I.díl, 2.část, Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR ve Výstavnictví zemědělství a výživy České Budějovice
- JAVORSKÝ, P., F. KREČMER, 1987: *Chemické rozbory v zemědělských laboratořích*. II.díl, 2.část, Ministerstvo zemědělství a výživy ČSR ve Výstavnictví zemědělství a výživy České Budějovice
- KITTA, K., Y. HAGIWARA, T. SHIBAMOTO, 1992: Antioxidative activity of an isoflavonoid 2''-*o*-glycosylisovitexin isolated from barley leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1843-1845.
- LEE, S.H., S.S. JEW, P.S. CHANG, I.J. HONG, E.S. HWANG, K.S. KIM, K.T. KIM and H.L. SUNG, 2003: Free radical scavenging effect and antioxidant activities of barley leaves. *Food Science and Biotechnology*, 12: 268-273.
- NISHIYAMA, T., Y. HAGIWARA, H. HAGIWARA and T. SHIBAMOTO, 1994: Inhibitory effect of 2''-*o*-glycosyl isovitexin and  $\alpha$ -tocopherol on genotoxic glyoxal formation in a lipid peroxidation system. *Food and Chemical Toxicology*, 32: 1047-1051.
- ORSÁK, M., J. LACHMAN and V. PIVEC, 2000: Effect of UV-A and gamma-irradiation on the polyphenol levels in barley and pea seeds, seedlings and plants. *Scientia Agriculturae Bohemica*, 31: 181-196.
- OSAWA, T., H. KATSUZAKI, Y. HAGIWARA, and T. SHIBAMOTO, 1992: A novel antioxidant isolated from young green barley leaves. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40: 1135-1138.
- PRÝMA, J., J. EHRENBERGEROVÁ, N. BELCREDIOVÁ, K. VACULOVÁ, 2007: Tocol content in barley. *Acta Chim. Slov.*, 1: 102-105.
- SHIBAMOTO, T., Y. HAGIWARA, H. HAGIWARA and J. OSAWA, 1994: A flavonoid with strong antioxidative activity isolated from young green barley leaves. *American Chemical Society, Washington, ACS Symp., Ser.* 547:153-163.
- ZADOKS, J.C., T.T. CHANG and G.F. KONZAK 1974: A decimal code for growth stages of cereals. *Weed Research*, 14: 415-421.
- ZBÍRAL, J. 1994: *Analýza rostlinného materiálu*. Jednotné metodické postupy. Státní kontrolní a zkušební ústav zemědělský Brno.

# Evaluation of HPPD gene expression in relation to vitamin E content in barley

M. KOSAŘ, L. HOLKOVÁ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI and J. EHRENBERGEROVÁ

The term vitamin E encompasses the range of components with a similar chemical structure, which are also called tocopherols, which are also called tocopherols. A group of four tocopherols and four tocotrienols, marked with Greek letters  $\alpha$  -  $\delta$ , is included among these components with a key antioxidant effect. Vitamin E has a very important function in plants. It protects photosynthetic apparatus from damage caused by free radical elements and helps plants to survive stress conditions such as cold and drought. Moreover, vitamin E has positive effect on human health. One of the important enzymes in a biosynthetic pathway of vitamin E is 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase (HPPD). HPPD is considered as one of the essential factors, which control activity of the whole biosynthetic pathway due to its strategic location. The highest vitamin E content among cereals was detected in spring barley (HOLASOVÁ et al. 1995) and the barley cultivars with higher level of vitamin E have been already developed (WANG et al. 1993).

This study was focused on the determination of regulation of the gene expression for HPPD in cultivars with contrastive level of vitamin E during the growth and development of plants and grains. Cultivars (see Table 1) were grown in a phytotron under optimal growing conditions. Evaluation of gene expression for HPPD was carried out in the different growth and development stages of leaves and grains.

Evaluation of relative gene expression in leaves confirmed published information (Kleber-Janke and Krupinska, 1997). In the majority of varieties the highest gene expression was detected during grain

	Tocopherols			Tocotrienols			Total
	$\alpha$ -T	$\beta$ + $\gamma$ -T	d-T	$\alpha$ -T3	$\beta$ + $\gamma$ -T3	d-T3	
Krona (Kr)	6,96	3,64	0,84	27,59	10,38	0,55	49,96
Kompakt (Kom)	7,05	5,75	1,10	24,84	12,25	0,71	51,70
KM 1771 (KM)	5,87	2,72	0,69	22,79	13,76	0,93	46,76
Carina (Car)	9,79	4,64	0,97	23,54	8,02	0,56	47,52
Wabet (Wb)	7,35	4,08	1,17	34,80	12,45	0,60	60,45
Wanubet (Wnb)	6,17	3,78	1,16	36,32	12,4	0,53	60,36
Washonubet (Wsnb)	6,56	3,13	0,93	42,09	13,86	0,62	67,19

Table 1: Content of tocopherols in grain [mg/kg], locality Žabčice, Czech Republic, 2005

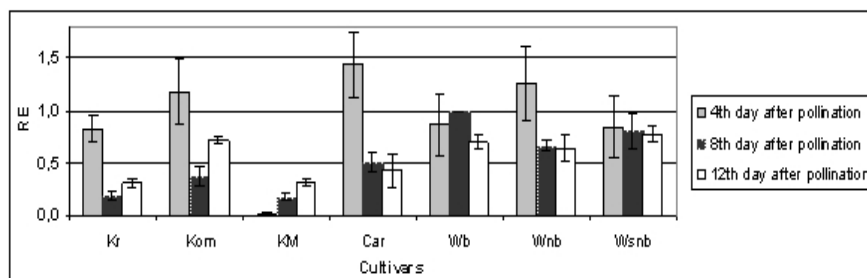


Figure 1: Normalized relative expression (RE) of HPPD gene in barley grain was evaluated according to PFAFFL (2001). Quantification is based on Ct (threshold cycle) values that were normalized using the Ct value corresponding to a barley housekeeping gene for a tubulin.

filling in fourth day after pollination (see Figure 1).

The expression of HPPD gene in cultivars with low content of vitamin E was descending during sampling whereas the expression of this gene in cultivars with high level of vitamin E was identical or descending very slowly. Results have confirmed the relationship between the activity of the gene on the eighth and the twelfth day after pollination and content of vitamin E, which is typical for the cultivars in field condition. Higher gene expression was found in the cultivars with higher level of vitamin E than in the cultivars with lower vitamin E content. This relationship was statistically significant and the correlation coefficient of this relation was 0,85.

## References

- HOLASOVÁ, M., J. VELÍŠEK and J. DAVÍDEK, 1995: Tocopherol and tocotrienol contents in cereal grains. *Potravinářské vědy*, Vol. 13.
- KLEBER-JANKE, T. and K. KRUPINSKA, 1997: Isolation of cDNA clones for genes showing enhanced expression in barley leaves during dark induced senescence under field conditions. *Planta*, 1997, Vol. 203.
- PFAFFL, M.W., 2001: A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.*, Vol. 29.
- WANG, L.J., R.K. NEWMAN, C.W. NEWMAN, L.L. JACKSON and P.J. HOFER, 1993: Tocotrienol and fatty acid composition of barley oil and effects on lipid metabolism. *Plant Foods for Human Nutrition.*, Vol. 43.

This study was supported by the Czech Ministry of Education (1M0570).

Autoren: M. KOSAŘ, L. HOLKOVÁ, N. BŘEZINOVÁ BELCREDI and J. EHRENBERGEROVÁ, Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Mendel University of Agriculture and Forestry, Zemědělská 1, CZ-613 00 BRNO



# Differences in barley *Dhn* genes expression in the plants exposed to short/long term drought stress

P. MIKULKOVÁ, L. HOLKOVÁ, M. BRADÁČOVÁ and O. CHLOUPEK

Water deficit is one of the major factors limiting plant growth and development and crop productivity (MALATRASI et al. 2002). Adaptation mechanisms of plants to drought stress conditions are based on many factors involving physiological and genetics traits as root system size, thickness of cuticula and the size of stomata. These factors result in different expression of stress genes on molecular level. Tolerance to abiotic stress is associated with accumulation of stress-induced proteins including LEA proteins.

Some of them -dehydrine- are accumulated under abiotic stress (drought, low temperature, osmotic stress, seed drying, salinity) and protect the cells from water deficit. It shows that intensity and start of expression of *Dhn* genes are genotypically dependent. In SUPRUNOVA et al. (2004) high correlations between the rates of relation expression level of these genes and the level of tolerance of tested barley varieties were detected.

In our experiments we studied a dependence of level of drought tolerance of different barley varieties on intensity of *Dhn1* gene expression under different drought stress conditions. Expression was evaluated in 5 barley varieties with different level of drought tolerance:

*Tadmor* (Tad) - drought tolerant variety, species *Hordeum spontaneum*, origin Syria, *Amulet* (Amu) - recommended to drought areas, CZ, *Bojos* (Boj), *Malz* (Mal) - universal varieties to every agricultural areas, CZ, *Jersey* (Jer) - low yield of grain in drought areas, NLD.

## Dehydration treatment for expression analysis

We exposed barley plants to 2 types of drought stress conditions:

1. in short-term drought stress condition plants were grown hydroponically in MS medium. Leaves tissues were

cutted from 10-day-old seedlings and placed onto dry filter paper. After 1, 3, 6, 12 and 24 hours of dehydration the samples were taken for RNA analysis.

2. in long-term drought stress condition were two weeks old plants removed to solution of PEG (0,3 MPa) for simulation of drought conditions in soil. The control plants were growing in MS medium. After 3, 6, 12 and 24 hours and than after 4, 7 and 14 days of growth in PEG the samples were taken for RNA analysis.

Our results confirm supposition that the variety *Amulet* was adaptable to drought stress conditions at the level of expression of stress genes. More resistant varieties to drought (*Tadmor* and *Amulet*) initiated the expression of *Dhn* genes in cutted leaves later, but the intensity was higher (*Figure 1*) which can be explained by better defense mechanisms on molecular level. Resistant varieties were able to compensate water loss rate with active expression of dehydrins. Long term drought stress (PEG) is not so stress inducing for these varieties, therefore

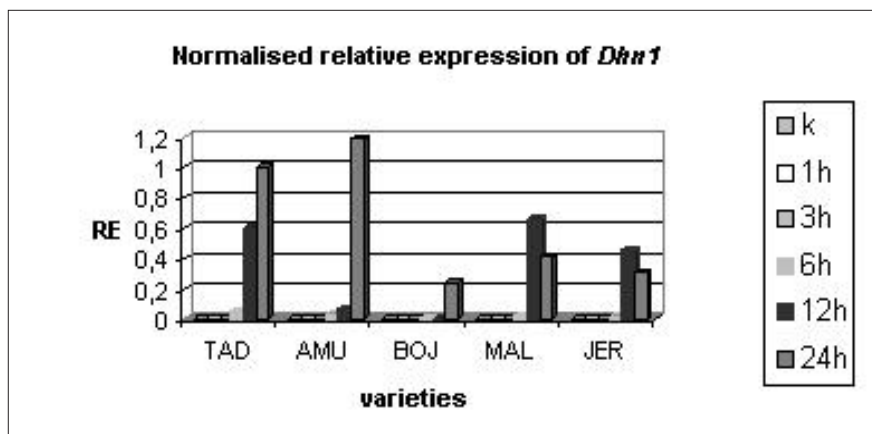


Figure 1: Evaluation of relative expression of *Dhn1* gene in leaves tissues was evaluated according to PFAFFL (2001). Quantification is based on Ct (threshold cycle) values that were normalised using the Ct value corresponding to a barley housekeeping gene for a tubulin.

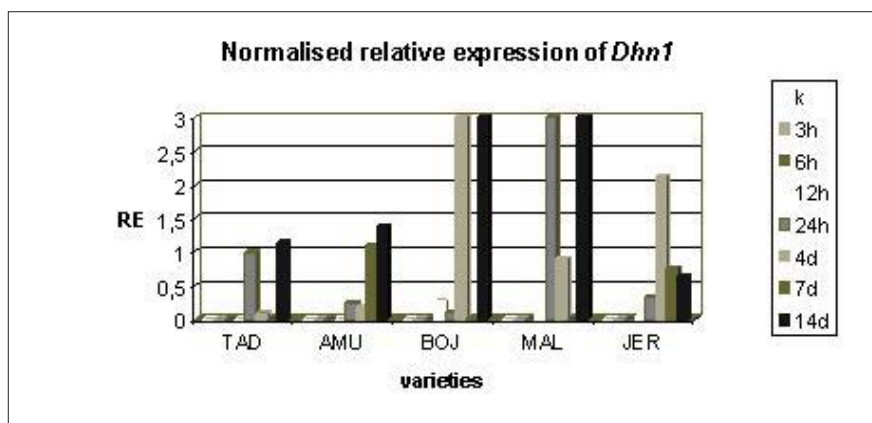


Figure 2: Evaluation of relative expression of *Dhn1* gene in plants growing in PEG solution

Autoren: P. MIKULKOVÁ, L. HOLKOVÁ, M. BRADÁČOVÁ and O. CHLOUPEK, Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Mendel University of Agriculture and Forestry, Zemedelska 1, CZ-613 00 BRNO

they were able to cope better with water deficit. Used cultivation conditions were probably more stressful for more sensitive varieties *H. vulgare* probably due to slower closing of stomata and higher cuticular transcription in the beginning of desiccation. All these factors lead to higher activity of *Dhn* genes in these sensitive varieties (Figure 2).

It shows that evaluation of *Dhn1* gene expression could be used for preliminary prediction of sensitivity of barley geno-

types to drought stress on genetic level. More tolerant genotypes show probably earlier start of expression of this gene during short strong stress and on the contrary delayed but more intensive expression during long-term mild stress.

## References

MALATRASI, M., T.J. CLOSE and N. MARMIROLI, 2002: Identification and mapping of a putative stress response regulator gene in barley. *Plant Molecular Biology* 50: 143-152.

PFÄFFL, M.W., 2001: A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res.* 29(9): E45-E45.

SUPRUNOVA, T., T. KRUGMAN, T. FAHIMA, G. CHEN, I. SHAMS, A. KOROL and E. NEVO, 2004: Differential expression of dehydrin genes in wild barley, *Hordeum spontaneum*, associated with resistance to water deficit. *Plant, Cell and Environment* 27: 1297-1308.

This work was supported by grants OF 3191 and VC 1M0570.

# Seed Quality and Fungal Growth on Barley Seed

P. HRSTKOVÁ

## Introduction

The study was aimed at determining potential differences in seed quality of spring malting barley in relation to fungal occurrence measured as a content of ergosterol in grain.

Malt production is based on controlled limited germination of barley grains. Apart from malting quality other characteristics required for malting barley are sound grain with minimal fungal contamination, absence of pre-germination, germinative capacity not less than 99% and germinative energy not less than 98% at time of malting (MORRIS, BRYCE 2000). Lower seed quality often associates with fungi infection, fungi can occur both during ripening and/or storage.

Several methods have been developed for detection and quantification of fungal contamination, i.e. sensorial evaluations (odour and visual presence of mycelium), microbiological methods (spore counting techniques), and chemical and biochemical methods incl. chitin, ergosterol and fungal secondary metabolites as mycotoxins (MAGAN 1993).

Ergosterol is widely proposed as a measure of fungal growth. Various applications of ergosterol analyses were described, e.g. for the early and accurate detection of fungal activity in stored

grain, for quantification of living fungal biomass present in soil, as an early indicator of potential mycotoxin production (SCHWADORE, MÜLLER 1989).

## Material and Methods

The samples of barley seeds of six commonly grown malting varieties were obtained from the Czech Official Variety Trials, which were performed in 2002 and 2003 on six field stations with different soil and climatic conditions. No fungicides and only moderate amount of fertilizers were applied during growing. The seed quality was evaluated by the standard laboratory germination test and by the method for estimation of seed vigour. This method determined vigour as a germination rate under stress conditions, i.e. low temperature (9-10 °C) and insufficient water uptake (CHLOUPEK et al. 1997). Drought was induced by polyethyleneglycol solution, which osmotic potential of -2 bars corresponded to 100 g of PEG 6000 in 1 litre distilled water at 10 °C (BURLYN and KAUFMANN 1972). For statistical evaluations the software Statistica 7.0, StatSoft, Inc. was used.

The content of ergosterol in all seed samples was measured using HPLC technique developed in LUFA, Bonn (WOLF 1998, 1999).

## Results and Discussion

The multiple comparisons of standard germination, vigour and ergosterol content are summarised in *Table 1*. The germination rates (97.6-99.9%) and vigour estimations (96.9-99.8%) were very high in both years with the exception of stations Vysoká (germ. 80%; vig. 78.2%) and Libějovice (germ. 44.9%; vig. 37.3%) in 2002. Due to heavy rains at the beginning of August that postponed harvest at those stations the seed quality was very low and significant differences among the varieties were detected. The variety Amulet was the most tolerant to the unsuitable humidity (germ. 91.5 and 53.0%; vig. 91.0 and 49.5% Vysoká, Libějovice resp.) the varieties Kompakt (germ. 70.5 and 24.0%; vig. 70.0 and 20.5% Vysoká, Libějovice resp.) and Prestige (germ. 70.0 and 43.5%; vig. 63.5 and 30.5% Vysoká, Libějovice resp.) were the least tolerant. The crop year 2003 was generally very suitable for spring barley, the grain was well developed and all germination parameters were above standards, e.g. germination energy 98% and germination rapidity 86.2% compared to year 2002 (97.0% and 78.6% resp.) (PROKEŠ 2004).

The effect of variety on ergosterol content was not proved, only the effect of location was statistically significant (*Ta-*

Table 1: Mean values for standard germination, vigour and ergosterol content in 2002 and 2003 year

Variety	Standard germination (%)		Vigour (%)		Ergosterol (mg/kg)	
	2002	2003	2002	2003	2002	2003
Amulet	90.1 NS	98.7 NS	88.5 NS	98.9 NS	6.1 NS	7.6 NS
Jersey	86.4 NS	99.3 NS	82.2 NS	99.0 NS	4.7 NS	6.9 NS
Kompakt	81.8 NS	99.0 NS	81.0 NS	98.7 NS	5.7 NS	8.0 NS
Malz	88.6 NS	99.3 NS	88.3 NS	98.8 NS	4.7 NS	6.5 NS
Prestige	84.9 NS	99.3 NS	81.2 NS	98.8 NS	5.3 NS	7.2 NS
Tolar	88.5 NS	99.3 NS	87.5 NS	99.7 NS	4.8 NS	6.7 NS
Mean	86.7	99.1	84.8	99.0	5.2	7.1
<b>Location</b>						
Chrastava	99.0 d	98.8 a	97.1 c	98.5 a	6.2 c	10.0 d
Chrlice	97.6 c	99.6 b	96.9 c	99.8 b	3.9 bc	8.2 c
Lednice	99.3 d	98.2 a	99.3 d	97.8 a	3.8 bc	6.9 bc
Libějovice	44.9 a	98.7 a	37.3 a	98.6 a	13.7 d	6.9 bc
Věrovany	99.5 d	99.9 b	99.8 d	99.6 b	0.1 a	4.9 a
Vysoká	80.0 b	99.7 b	78.2 b	99.7 b	3.5 b	6.1 ab
<b>Mean</b>	<b>86.7</b>	<b>99.1</b>	<b>84.8</b>	<b>99.0</b>	<b>5.2</b>	<b>7.1</b>

Fischer's LSD test, NS - non-significant; a-d letters denote significant differences at the 95% confidence level

**Autor:** Dr. Pavlina HRSTKOVÁ, Mendel University of Agriculture and Forestry Brno, Zemedelska 1, CZ61300 BRNO, hrstkova@mendelu.cz

*ble 1*). The differences in seed lots were found in both crop years; the average ergosterol content was 5.2 mg/kg in 2002 and 7.1 mg/kg in 2003. The highest fungi contamination was proved particularly on poor quality seeds from the station Libějovice in 2002, the only samples with the visible mould (from 10,8 to 18,9 mg/kg). Although the seed quality was better in the 2003 year, the content of ergosterol was actually higher in all samples with the exception of samples from Libějovice. This study dealt with naturally contaminated grain, therefore the content of ergosterol was lower than that found in inoculated grain where can reach up to 250 mg/kg (GOURAMA, BULLERMAN 1994). The ergosterol content showed a negative correlation with the germination rate and vigour

estimation in both years, -0.75 and -0.79 in 2002, and -0.33 and -0.21 in 2003. It is possible that weak correlations in 2003 were caused by small differences in seed quality of tested samples.

## References

- BURLYN, M.E. and M.R. KAUFMANN, 1972: The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51, 914-916.
- CHLOUPEK, O., J. EHRENBERGEROVÁ, R. ŠEVČÍK and P. PAŘÍZEK, 1997: Genetic and nongenetic factors affecting germination and vitality in spring barley seed. *Plant Breeding* 116, 186-188.
- GOURAMA, H. and L.B. BULLERMAN, 1995: Relationship between aflatoxin production and mold growth as measured by ergosterol and plate-count. *Food Sci. Tech. - Lebensm.-Wiss. u.-Technol.* 28 (2), 185-189.
- MAGAN, N., 1993: Early detection of fungi in stored grain. *International Biodeterioration and Biodegradation* 32 (1-3), 145-160.
- MORRIS, P.C. and J.H. BRYCE, 2000: *Cereal biotechnology*. Woodhead Publishing Limited, p. 252.
- PROKEŠ, J., 2004: Parameters of malting barley quality, harvest 2003. *Barley Year Book 2004*, Research Institute of Brewing and Malting, 81-86.
- SCHWADORF, K. and H.M. MÜLLER, 1989: Determination of Ergosterol in Cereals, Feed Components and Mixed Feed by Liquid Chromatography. *J. Assoc. Anal. Chem.* 72, 457-462.
- WOLF, D., 1998: Standardarbeitsanleitung 42.30. R28. LUFA, Bonn.
- WOLF, D., 1999: Vereinfachtes Verfahren und Laborpraktikum bei LUFA, Bonn.

## Acknowledgement

This research was supported by the Grant Agency of the Czech Republic (Project No. 521/02/153).



# Zehn elementare Voraussetzungen zur sicheren Bestimmung von GVO-Beimengungen in Saatgut

T. KEIL und M. KLEINE

Die PLANTON GmbH ist ein akkreditiertes Prüflabor und führt Spezialanalysen für die Saatgutwirtschaft durch.

Die Kompetenz der PLANTON GmbH liegt in der Identifikation und Quantifizierung von GVO-Beimengungen in Saatgutpartien. Um diese Beimengungen sicher bestimmen zu können, sind verschiedene Maßnahmen zur Qualitätssicherung zwingend erforderlich:

Eine Akkreditierung des Prüflabors nach DIN EN ISO 17025:2005 garantiert dem Auftraggeber eine hohe Analysequalität und durch das etablierte Qualitätsmanagementsystem (entsprechend der ISO 9001) die Einhaltung wichtiger Qualitätsstandards. Die Abläufe in diesem Labor sind standardisiert und die Ergebnisse reproduzierbar.

Externe Qualitätskontrollen müssen durch regelmäßige Teilnahme an Ringversuchen erfüllt werden. Darüber hinaus sorgen Kundenaudits für eine Überprüfung des Labors.

In den Prüflaboren muss ein Raumkonzept realisiert sein, um Querkontaminationen zu verhindern. Dies wird durch eine

Aufteilung der Räume in funktionelle Einheiten und einen Probendurchlauf nach dem Einwegprinzip sichergestellt. Nur durch eine effiziente Vermahlung und eine gute Homogenisierung der Proben können valide Ergebnisse erzielt werden. Dafür ist ein probenabhängiges Vermahlungssystem notwendig. Idealerweise können damit auch große Probenmengen verarbeitet werden, um eine hohe statistische Sicherheit zu erreichen. Nur wenn bei der Vermahlung auch eine homogene Untersuchungsprobe erstellt wird, sind valide und reproduzierbare GVO-Nachweise möglich.

Bei der DNA-Isolation müssen für unterschiedliches Probenmaterial, spezielle Protokolle entwickelt werden, um sowohl eine hohe Ausbeute als auch eine hohe Güte der DNA zu erzielen. Über mehrere DNA Qualitätskontrollen müssen Inhibitoren im Ansatz identifiziert werden.

Mit der *real-time* PCR wird die Validität der Analysen sichergestellt. Durch die PCR-Analyse mit artspezifischen Genen (*housekeeping genes*) werden sowohl die Proben, als auch die Standardreihen in

ihrer Qualität und in ihrer Konzentration korrigiert und aneinander angeglichen. Beides ist notwendig, um schließlich den exakten Gehalt der GVO-Beimengung in einer Probe feststellen zu können.

Ein mehrfacher Probenansatz stellt die Reproduzierbarkeit der Ergebnisse sicher und eliminiert sowohl falsch positive als auch falsch negative Proben.

Nur über Standardreihen, die aus zertifiziertem Referenzmaterial oder definierten Kundenmaterialien hergestellt wurden, kann der tatsächliche Gehalt einer GVO-Beimengung in einer Probe berechnet werden.

Sämtliche Verfahren sollten konform mit dem §64 des deutschen Lebensmittel- und Futtermittelgesetzbuches (LFGB) sein und sich an den Methoden der „Länder Arbeitsgemeinschaft Gentechnik“ (LAG) orientieren.

Die Arbeitsabläufe im Labor müssen an die Anforderungen der Saatgutwirtschaft angepasst werden. Insbesondere zu den Erntezeiten muss ein hoher Probendurchsatz und eine schnelle Bearbeitungszeit (< 24 h) gewährleistet sein.

**Autoren:** Dipl.-Ing. Tobias KEIL und Michael KLEINE, PLANTON GmbH, Am Kiel-Kanal 44, D-24106 KIEL, [www.planton.de](http://www.planton.de), [analytik@planton.de](mailto:analytik@planton.de)

# Saatgutschwellenwerte - essenziell für die Schaffung von Rechtssicherheit

K. MÖNCH

Weltweit gewinnt die Nutzung gentechnisch veränderter Pflanzen an Bedeutung. Die europäischen Warenströme kommen durch steigenden Anbau und Handel mit gentechnisch veränderten Pflanzen zunehmend mit gv-Bestandteilen in Berührung. Minimale GVO-Spuren in konventionellen Produkten sind daher nicht vollständig auszuschließen. Kennzeichnungsschwellenwerte ziehen die Grenze zwischen einer bewussten Anwendung der Gentechnik und einer zufälligen und technisch unvermeidbaren GVO-Beimischung. Sie dienen der Information von Verbrauchern und Landwirten und sichern somit die Wahlfreiheit.

Für Saatgut wird eine Entscheidung über einen solchen Schwellenwert seit Jahren immer wieder verschoben. Dadurch herrscht für die Saatgutwirtschaft große Rechtsunsicherheit, da die Behörden bislang widersprüchlich reagierten, wenn in Saatgut GVO-Spuren gefunden wurden. Dies hat für die Unternehmen gravierende wirtschaftliche Konsequenzen.

## Status Quo

Bisher sind lediglich zwei Maisevents zum Anbau in der EU zugelassen. Auch für deren Vorkommen gelten keine verbindlichen Saatgutschwellenwerte, aufgrund von EU-Empfehlungen werden allerdings Spuren bis zu 0,1% in konventionellem Saatgut toleriert. Demgegenüber stehen 51 Events für die in der EU Zulassungsanträge (Verwendung als Lebens- und Futtermittel, Import als vermehrungsfähiger GVO, Anbau) gestellt wurden, die aber nicht zum Anbau genehmigt sind. Zusätzlich gibt es 92 Drittlandeentscheidungen sowie einige Events mit ausgelaufener Zulassung, die weltweit gehandelt werden, deren Auftreten in Saatgut in der EU aber nicht geregelt ist. Werden Spuren dieser Events in konventionellem Saatgut nachgewiesen, müssen die betreffenden

Saatgutpartien zurückgerufen, bzw. die Feldbestände bereits ausgesäter Partien vernichtet werden.

## Probleme

Auch hinsichtlich Probenahme und Analytik für den Nachweis von GVO-Bestandteilen bestehen nach wie vor Unklarheiten. Unterhalb der technischen Nachweisgrenze von 0,1% ist die Analytik derart unsicher, dass ein positives Ergebnis kaum Aussagekraft besitzt. Uneinheitliche Standards bei Probennahme, Analytik und der PCR-Methodik bewirken unterschiedliche Untersuchungsergebnisse zwischen den Laboren. Selbst innerhalb eines Labors können die Analyseergebnisse zweier identischer Proben stark voneinander abweichen. Ein Grund hierfür ist, dass die hohe Sensitivität der Nachweismethoden (v.a. PCR) - auch für Fehler - unterschätzt wird. Mögliche Eintragungsgründe wie z.B. anhaftender Staub, Verschleppungen im Labor oder natürliche Quellen der Zielsequenz können Ergebnisse verfälschen. Darüber hinaus steigt die Wahrscheinlichkeit von nicht eindeutigen (z.B. so genannten falsch-positiven) Ergebnissen, je niedriger die Nachweisgrenzen der Events sind. Gerade bei unsicheren Ergebnissen ist es von enormer Bedeutung, diese durch eine B-Probe zu verifizieren, um Vollzugsmaßnahmen zu verhindern, die sich auf einen bloßen Verdacht begründen. Da Saatgutschwellenwerte fehlen und keine verbindlichen Standards für die Probenaufbereitung und -analyse vorliegen, herrscht bei den ausführenden Behörden extreme Rechtsunsicherheit ob und wann Vollzugsmaßnahmen eingeleitet werden sollen.

## Auswirkungen

Seit 2000 gab es allein in Deutschland acht Verdachtsfälle von GVO-Spuren in konventionellem Saatgut, die zu

enormen finanziellen Schäden bei Züchtern und Landwirten geführt und einem Imageverlust der betroffenen Unternehmen bewirkt haben. Die vermeintlich positiven Befunde konnten bei wiederholter Untersuchung jedoch nicht bestätigt werden. Schon jetzt ergreifen die Pflanzenzuchtunternehmen aus eigener Initiative zusätzliche Qualitätssicherungsmaßnahmen, die eine hohe zusätzliche finanzielle Belastung bedeuten. Eine neu veröffentlichte EU-Studie<sup>(1)</sup> bestätigt steigende Produktionskosten für (Mais)Saatgut, je niedriger der zugrunde gelegte Saatgutschwellenwert ist. Demnach werden Kostenerhöhungen v.a. durch steigende Feldkosten (Erhöhung Isolationsabstände, getrennte Maschinen bzw. Reinigungsaufwand der Maschinen), steigende Verarbeitungskosten (Anlagenmanagement, Reinigung) und erhöhte Verwerfungen von Saatgutchargen bewirkt.

## Fazit

Die für Pflanzenzüchter und Landwirtschaft untragbare Situation ist ausschließlich auf fehlendes Handeln der Politik zurückzuführen, nach Schwellenwerten für Futtermittel und Lebensmittel auch Saatgutschwellenwerte festzusetzen. EU, Bund und Länder reichen sich gegenseitig die Verantwortlichkeit zu. Bisweilen folgt man damit einer Argumentation, so die Gentechnik erfolgreich aufzuhalten. Die gravierenden wirtschaftlichen Schäden, die dadurch gerade in der konventionellen Saatguterzeugung verursacht werden, nimmt man billigend in Kauf.

Der BDP fordert daher eine Beendigung der Rechtsunsicherheit für Züchtungsunternehmen und Behörden durch:

<sup>(1)</sup> KALAITZANDONAKES, N. and A. MAGNIER, 2007: The economics of adventitious presence thresholds in the EU seed market

- 
- Festlegung von EU-weit gültigen Saatgutschwellenwerten für unbeabsichtigte und unvermeidbare GVO-Beimischungen genehmigter Events orientiert am Kennzeichnungsschwellenwert für Lebensmittel und Futtermittel (0,9 %)! • Festlegung eines Toleranzwertes für alle anderen Events! • Einheitliche und verbindliche Vorgaben für Probenahme und Analytik, die kulturartenspezifische Besonderheiten berücksichtigen!
- Bundesverband  
Deutscher Pflanzenzüchter e.V. (BDP)
- Ansprechpartner:  
Kerstin Mönch,  
Bettina Sánchez Bergmann

# Genetische und umweltbedingte Variation des Stärkegehaltes von Weizen und Triticale in Hinblick auf die Bioethanolerzeugung

M. OBERFORSTER und R. KÖHLDORFER

## Einleitung

Der Einsatz von Bioethanol in Kraftfahrzeugen gewinnt zunehmend an Bedeutung. Die Richtlinie 2003/30/EG bestimmt, dass bis 2010 mindestens 5,75 % Biokraftstoffe den fossilen Treibstoffen zugemischt werden. In Deutschland bestehen gegenwärtig Anlagen mit einem Verarbeitungsvolumen von 1,6 Mio t Getreide. Das österreichische Werk Pischelsdorf bei Tulln nimmt im Frühjahr 2008 seinen Regelbetrieb auf. Geplant ist, neben Nassmais und Rübensaft bis zu 450.000 t Getreide (bevorzugt Weizen und Triticale) zu Ethanol zu verarbeiten.

Eine hohe Ethanolausbeute je Gewichtseinheit Rohstoff ist für die Wirtschaftlichkeit des Unternehmens wesentlich. Die Ethanolausbeute wird primär durch den Stärkegehalt, der mit dem Proteingehalt negativ korreliert ist, bestimmt (ROSENBERGER et al. 2000, KRATSCH 2003, KUČEROVÁ 2007). Mit jedem Prozent Proteinabnahme können 5 l Ethanol pro Tonne Korntrockenmasse mehr gewonnen werden (SCHÄFER 1995). Weiters beeinflussen die Stärkebeschaffenheit (Anteil vergärbare Stärke) sowie unbekannte Faktoren die Ethanolausbeute. Derzeit existieren keine Getreidesorten, die speziell für die Ethanolherstellung selektiert wurden.

## Material und Methoden

### Standorte und Versuche

Insgesamt 28 einfaktorische Winterweizen- (5 Serien) und 12 Triticaleversuche (3 Serien) der Jahre 2005 bis 2007 wurden ausgewertet. Es handelt sich um Standorte im pannonischen Trockengebiet, im Alpenvorland, im Mühl- und Waldviertel sowie in der Steiermark (Abbildung 1). Die Prüfungen sind Teil des Sortenzulassungsverfahrens.

### Weizenversuche

#### Trockengebiet 2005, 2007

Parzellengröße 10,0 bis 13,5 m<sup>2</sup>, Prüfglieder in Gitteranlagen 3- bis 4-fach wiederholt, Vorfrüchte waren Sommerdurum, Körnererbse, Winterraps und Kartoffel, Aussaat mit 280 bis 325 keimfähigen Körnern/m<sup>2</sup>, N-Gesamtmenge 92 bis 146 kg/ha, Fungizide wurden nicht eingesetzt.

### Weizenversuche

#### Feuchtgebiet 2005 bis 2007

Parzellengröße 8,1 bis 12,2 m<sup>2</sup>, Prüfglieder in Gitteranlagen 3- bis 4-fach wiederholt, Vorfrüchte waren Körner- und Silomais, Englisches Raygras, Sojabohne, Lupine, Leguminosengemenge, Winterraps und Körnersenf, Aussaat mit 300 bis 400 keimfähigen Körnern/m<sup>2</sup>, N-Gesamtmenge 108 bis 164 kg/ha. In der Saison 2005 und 2006 erhielten mehrere Versuche das Fungizidpräparat Jewel top (Wirkstoffe Kresoxim-methyl + Epoxi-

conazol + Fenpropimorph), im Jahr 2007 wurde Champion + Diamant (Wirkstoffe Boscalid + Epoxiconazol + Pyraclostrobin + Fenpropimorph) appliziert.

### Triticaleversuche 2005 bis 2007

Parzellengröße 8,1 bis 12,0 m<sup>2</sup>, Prüfglieder in Gitteranlagen 4-fach wiederholt, Vorfrüchte waren Winterroggen, Sommerhafer, Sommerweizen, Ackerbohne, Körnererbse, Leguminosengemenge, Winterraps und Öllein, Aussaat mit 280 bis 350 keimfähigen Körnern/m<sup>2</sup>, N-Gesamtmenge 68 bis 122 kg/ha, die Prüfungen erhielten kein Fungizid.

### Sorten und Zuchtstämme

Bei Winterweizen wurden 11 (Trockengebiet) bzw. 27 (Feuchtlagen) registrierte Sorten und Zuchtstämme analysiert. Das Sortiment umfasste Qualitätsweizen (Backqualitätsgruppe 7), Mahlweizen (Gruppe 3 bis 6) sowie Sonstige Weizen (Gruppe 1 und 2). 16 Genotypen von Triticale wurden getestet.

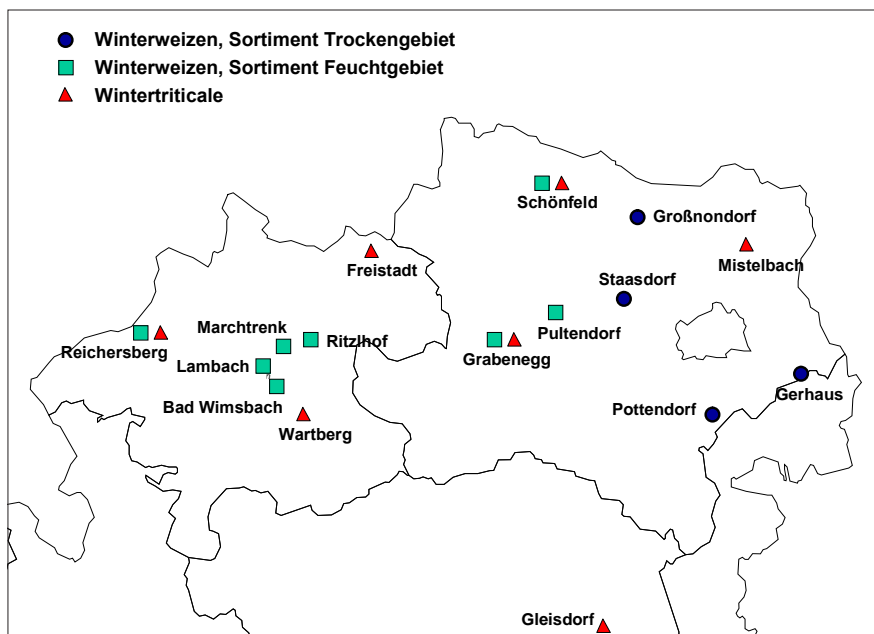


Abbildung 1: Versuchsstandorte für Winterweizen und Triticale

**Autoren:** Dipl.-Ing. Michael OBERFORSTER, Institut für Sortenwesen, michael.oberforster@ages.at und Ing. Regina KÖHLDORFER, Institut für Futtermittel, regina.koehldorfer@ages.at, Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191, A-1226 WIEN

**Tabelle 1: Winterweizen (Feuchtgebiet) - Mittelwerte von Parametern der äußeren Kornqualität, Kornertrag, Stärkegehalt und Stärkeertrag (18 Versuche von 2005 bis 2007, 8 Sorten)**

Getreideart/ Sorte	Zulassungsjahr/ BQG	Tausendkorngewicht g TS	Hektolitergewicht kg/hl	Rohprotein % TS	Kornertrag dt/ha 86% TS	Stärkegehalt % TS	Stärkeertrag dt/ha TS
Augustus	2002/3	43,1	82,3	13,1	90,5	68,7	53,5
Capo	1989/7	37,5	84,7	14,1	84,9	67,6	49,3
Chevalier	2005/5	35,3	82,3	12,9	89,8	67,9	52,4
Kerubino	2004/6	38,1	80,7	13,2	90,7	67,2	52,5
Ludwig	1997/7	41,1	81,7	13,6	88,2	67,9	51,5
Manhattan	2002/1	36,6	79,1	12,6	91,3	68,2	53,5
Mulan	2006/4	38,2	80,4	12,9	93,4	67,3	54,1
Toras	2005/5	36,9	80,1	13,1	88,7	68,8	52,5

BQG: Backqualitätsgruppe, 1 = sehr niedrige, 9 = sehr hohe Backqualität

### Winterweizen Trockengebiet

Capo, Balaton, Eurofit, Ludwig, Manhattan, Rainer, Toras, SW Maxi und mehrere Zuchtstämme.

### Winterweizen Feuchtgebiet

Augustus, Belmondo, Capo, Chevalier, Globus, Jenga, Kerubino, Levendis, Ludwig, Manhattan, Megas, Mulan, Papageno, Plutos, Rainer, Toras, Vitus, Winnetou und mehrere Zuchtstämme.

### Wintertriticale

Agrano, Madilo, Mungis, Polego, Presto, Rambus, Ticino, Tremplin, Triamant, Trisidan, Versus, NORD 00824/01 (Tulus) und weiteres Zuchtmaterial.

In *Tabelle 1* und *Tabelle 4* sind Durchschnittswerte orthogonaler Sortimente dargestellt.

### Erhobene und errechnete Parameter

Zentrale Messgrößen waren der Kornertrag (dt/ha, 86% TS), das Tausendkorngewicht (g TS, Zählung von 2 x 500 Körnern), das Hektolitergewicht (kg/hl, Doppelbestimmung), der Proteingehalt (% TS, nach DUMAS) sowie der Stärkegehalt (% TS, polarimetrische Methode nach Ewers gemäß RL 72/199/EWG idgF., Einfachbestimmung). Der Stärkeertrag (dt/ha) ist das Produkt aus Korntrockenmasseertrag (dt/ha) und Stärkegehalt (%). Die Berechnung des Proteingehaltes erfolgte bei Weizen mit dem Faktor 5,7, bei Triticale mit dem Faktor 6,25.

Zusammenhänge und gegenseitige Abhängigkeiten einzelner Merkmale sind mit der einfachen linearen Regression und dem Korrelationskoeffizient (r) beschrieben. Eine „intervarietale Korrelation“ bezieht sich auf Ergebnisse unterschiedlicher Genotypen bei gleichen Bedingungen (sortimentsspezifische

Auswertung). In der vorliegenden Arbeit gingen zumeist arithmetische Mittel der acht Versuchsserien in die Berechnung ein. Intervarietale Korrelationen sind insbesondere für züchterische Strategien relevant. Die „intravarietale Korrelation“ stellt die Ergebnisse eines Genotyps aus unterschiedlichen Umwelten in einer Maßzahl dar (sortenspezifische Auswertung). Sie gibt Hinweise zu Umweltwirkungen (Jahr, Standort) und produktionsbedingten Einflüssen. Die Vermengung von Wertepaaren mehrerer Sorten kann bei genetisch unterschiedlicher Merkmalsausprägung statistische Zusammenhänge gravierend verfälschen.

## Ergebnisse und Diskussion

### Winterweizen

#### Winterweizen Trockengebiet 2005

Zahlreiche Regentage von Ende Juni bis Mitte Juli hatten in Ostösterreich vielfach Auswuchs bewirkt. Die ausgewählten Versuche blieben davon weitgehend verschont. In Großnondorf und Pottendorf waren die Proteingehalte (12,3 bis 15,2%) teilweise außerhalb des für Ethanolweizen akzeptablen Bereichs. Ein negativer Zusammenhang zum Stärkegehalt war gegeben ( $r = -0,95^*$ ). Manhattan zeigte mit durchschnittlich 70,6% um 3% mehr Stärke als Capo; Ludwig, SW Maxi und Toras nahmen eine Mittelstellung ein. Die negative intervarietale Beziehung von Hektolitergewicht und Stärkegehalt ist sortimentsspezifisch (*Tabelle 2*).

#### Winterweizen Trockengebiet 2007

Das Jahr 2007 war in Ostösterreich durch eine vom 25. März bis 4. Mai anhaltende nahezu niederschlagslose Phase gekennzeichnet. Vielfach war dadurch die vegetative und generative Entwicklung der Weizenbestände gestört. Dank guter

Bodenbonität waren die Auswirkungen in Großnondorf, Pottendorf und Staasdorf weniger präsent. Wegen der primär auf die Erzeugung von Backweizen ausgerichteten N-Düngestrategie lagen die Proteingehalte im Mittel zwischen 12,9 und 14,7%. Diese für Ethanolweizen überhöhten Werte drückten erwartungsgemäß die Stärkegehalte auf 66,4 bis 68,8%. Ein signifikant negativer Korrelationskoeffizient ( $r = -0,61^*$ ) bestätigt dies (*Tabelle 2, Abbildung 2*). Großkörnige und ertragreiche Genotypen zeigten eine deutliche Tendenz zu höheren Stärkewerten. SZD 7912A und Ludwig lieferten mit durchschnittlich 68,6 bzw. 68,8% um 2,2 bzw. 2,4% mehr Stärke als Manhattan.

#### Winterweizen Feuchtgebiet 2005

Die Stärkewerte differierten im Mittel zwischen 67,6 und 69,6%. Weder die äußere Kornqualität (Tausendkorn- und Hektolitergewicht), noch Proteingehalt und Kornertrag zeigten eine brauchbare intervarietale Beziehung ( $r = -0,38$  bis  $r = 0,24$  n.s.) zur Stärkeausbeute (*Tabelle 2*). Winnetou, Augustus, Vitus, Belmondo und Plutos brachten höhere Stärkewerte, Mulan liegt niedriger.

#### Winterweizen Feuchtgebiet 2006

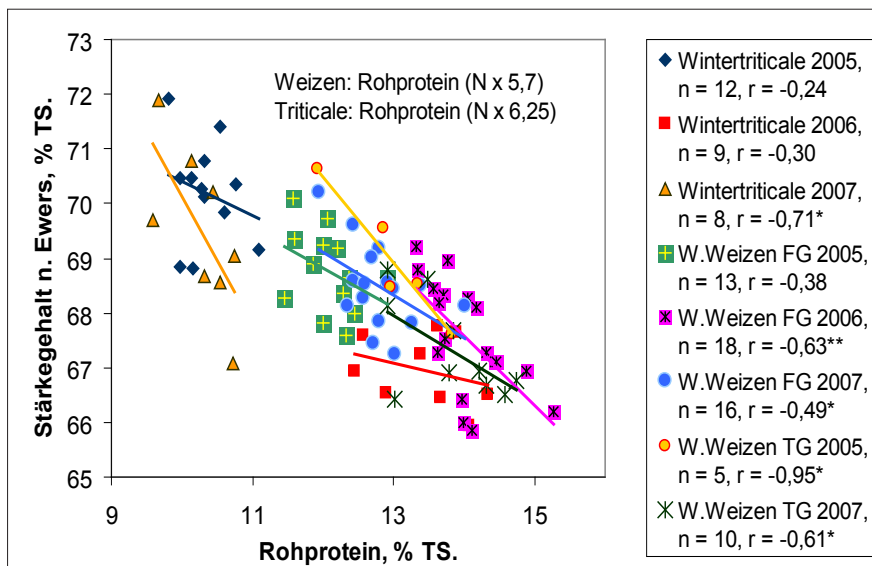
Die Versuche wurden noch vor den Auswuchs auslösenden Regenfällen im August geerntet. Die Kornausbildung war zumeist günstig (im Mittel 80,4 bis 85,8 kg Hektolitergewicht). Wegen der höheren Proteinwerte (13,3 bis 15,3%) blieben die Stärkegehalte mit 65,9 bis 69,2% auf mäßigem bis mittlerem Niveau. Abgesehen vom Versuch Ritzlhof (ohne Fungizidanwendung) war ein signifikant negativer Zusammenhang von Protein- und Stärkegehalt gegeben (im Mittel  $r = -0,63^{**}$ ). Im Gegensatz zum Jahr 2005 lieferten ertragsstarke

**Tabelle 2: Winterweizen (Trockengebiet TG, Feuchtgebiet FG) und Wintertriticale - Intervarietale Einfachkorrelationen (r) von Parametern der äußeren Kornqualität und Kornertrag zum Stärkegehalt (5 bzw. 3 Versuchsserien von 2005 bis 2007)**

Serie/Jahr	Tausendkorngewicht	Hektolitergewicht	Rohprotein	Kornertrag	
Winterweizen TG 2005	5 Sorten, 3 Versuche	-0,61	-0,92*	-0,95*	0,71
Winterweizen TG 2007	10 Sorten, 3 Versuche	0,60*	0,00	-0,61*	0,55*
Winterweizen FG 2005	13 Sorten, 6 Versuche	0,24	-0,01	-0,38	-0,01
Winterweizen FG 2006	18 Sorten, 7 Versuche	-0,30	-0,17	-0,63**	0,66**
Winterweizen FG 2007	16 Sorten, 5 Versuche	-0,30	-0,35	-0,49*	-0,03
Wintertriticale 2005	12 Sorten, 4 Versuche	0,55*	0,36	-0,24	-0,09
Wintertriticale 2006	9 Sorten, 3 Versuche	0,48	0,59*	-0,30	0,64*
Wintertriticale 2007	8 Sorten, 3 Versuche	0,15	0,19	-0,71*	0,25

\*: P < 0,05 (signifikant), Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5%

\*\*: P < 0,01 (hoch signifikant), Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1%



**Abbildung 2: Winterweizen (Trockengebiet TG, Feuchtgebiet FG) und Wintertriticale - Intervarietale Beziehung zwischen Rohprotein- und Stärkegehalt (5 bzw. 3 Versuchsserien von 2005 bis 2007)**

**Tabelle 3: Winterweizen (Feuchtgebiet) und Wintertriticale - Intravarietale Einfachkorrelationen (r) von Parametern der äußeren Kornqualität und Kornertrag zum Stärkegehalt (18 bzw. 10 Versuche von 2005 bis 2007, 8 bzw. 4 Sorten)**

Getreideart/Sorte	Tausendkorngewicht	Hektolitergewicht	Rohprotein	Kornertrag
<b>Winterweizen (n = 18)</b>				
Augustus	-0,54**	-0,58**	-0,71**	-0,11
Capo	-0,38	-0,60**	-0,83**	-0,02
Chevalier	-0,39	-0,24	-0,55**	0,01
Kerubino	0,05	-0,32	-0,65**	0,15
Ludwig	-0,28	-0,48*	-0,75**	-0,11
Manhattan	-0,20	-0,20	-0,47*	-0,28
Mulan	-0,27	-0,39	-0,76**	0,21
Toras	-0,15	-0,22	-0,51*	0,02
<b>Wintertriticale (n = 10)</b>				
Madilo	0,56*	0,40	-0,73**	0,28
Mungis	0,89**	0,70*	-0,86**	0,42
Polego	0,68*	0,25	-0,67*	0,23
Triamant	0,67*	0,00	-0,80**	-0,21

\*: P < 0,05 (signifikant), Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 5%

\*\*: P < 0,01 (hoch signifikant), Irrtumswahrscheinlichkeit kleiner als 1%

Sorten tendenziell auch höhere Stärkeausbeuten.

Papageno, Vitus, Jenga und Megas lagen voran (68,5 bis 69,2%), Levendis, Mulan und Capo brachten mit 65,9 bis

66,2% die niedrigsten Stärkegehalte. Die genotypische Variation des Hektolitergewichts stand in keiner relevanten Beziehung zum Stärkegehalt (Tabelle 2). Ein Grund könnte sein, dass Sorten

geringer Backfähigkeit oftmals zu einem tieferen Hektolitergewicht neigen.

### Winterweizen Feuchtgebiet 2007

Die für die Ethanolweizenproduktion konzipierten Versuche lieferten mehrheitlich ein proteinärmeres Erntegut als 2006. Jedoch ist die Beziehung zwischen Protein- und Stärkegehalt undeutlicher ( $r = -0,04$  n.s. bis  $r = -0,53^*$ , im Mittel  $r = -0,49^{**}$ ). Im Durchschnitt war kein nennenswerter intervarietaler Einfluss von Kornausbildung und Ertragspotenzial auf den Stärkegehalt erkennbar (Tabelle 2). Jenga brachte trotz seiner Kleinkörnigkeit und des geringeren Hektolitergewichtes die höchsten Stärkegehalte und Stärkeerträge.

### Intravarietale Beziehung (Winterweizen Feuchtgebiet 2005 bis 2007)

Es konnte gezeigt werden (Tabelle 3, Abbildung 3), dass von allen Merkmalen der Proteingehalt die Variation des Stärkeanteils am deutlichsten prägt ( $r = -0,47^*$  bis  $r = -0,83^{**}$ ). Eine zunehmende Korngröße bei Augustus hatte gesteigerte Protein- und verminderte Stärkewerte zur Folge. Partien mit höherem Eigengewicht lieferten tendenziell weniger Stärke. Insbesondere war dies bei Augustus, Capo und Ludwig zu sehen ( $r = -0,48^*$  bis  $r = -0,60^{**}$ ). Dies widerspricht Angaben in der Literatur (KRATSCHEK 2003, STÖLKEN et al. 2006, FARAK et al. 2007), wonach neben einem niedrigen Proteingehalt eine gute Kornausbildung wesentlich für die Qualität von Ethanolweizen sei. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass glasige und proteinreiche Partien häufig höhere Hektolitergewichte zeigen als mehligere. Unerwartet war, dass Ertrags- und Stärkegehalt bei keiner der acht Weizensorten positiv korreliert waren.

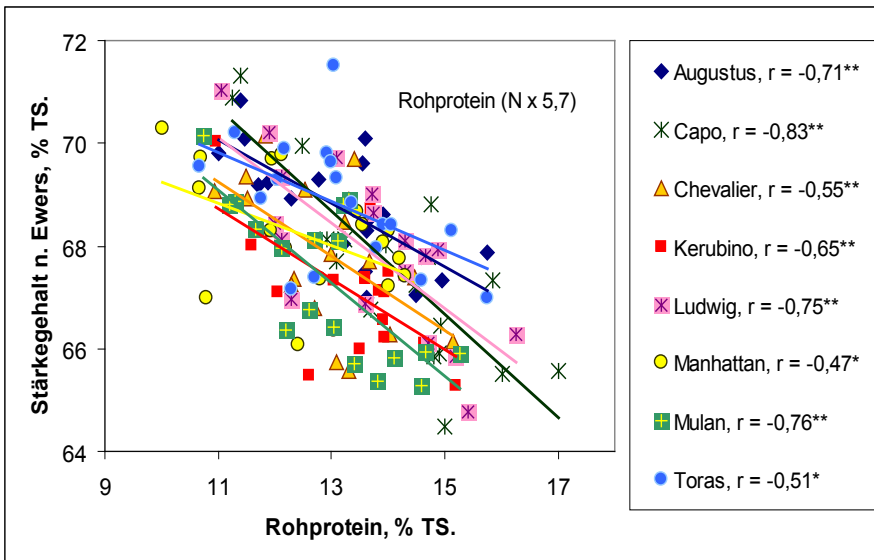


Abbildung 3: Winterweizen (Feuchtgebiet) - Beziehung (intravarietal) zwischen Rohprotein- und Stärkegehalt (18 Versuche von 2005 bis 2007, 8 Sorten)

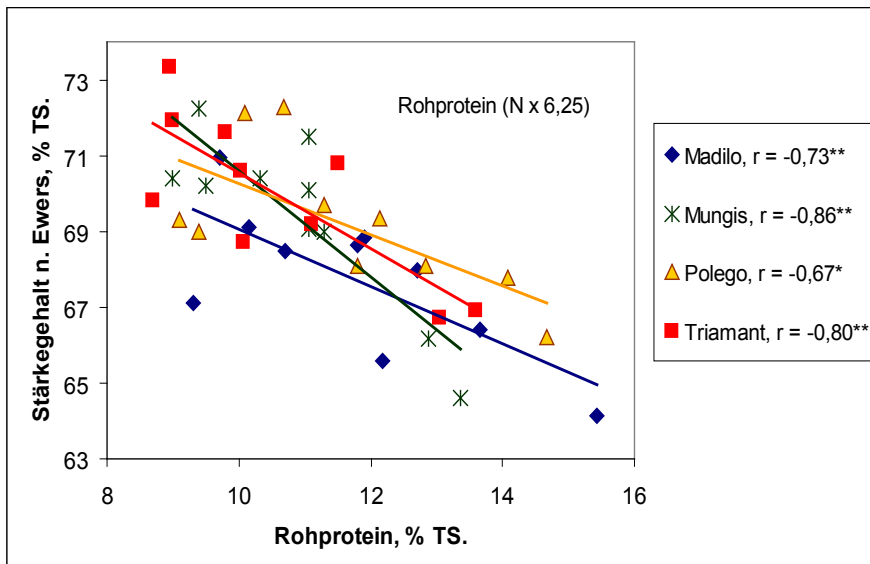


Abbildung 4: Wintertriticale - Beziehung (intravarietal) zwischen Rohprotein- und Stärkegehalt (10 Versuche von 2005 bis 2007, 4 Sorten)

**Wintertriticale**

**Wintertriticale 2005**

Intervarietal hatte die Korngröße einen schwach positiven Einfluss ( $r = 0,55^*$ ) auf die Stärkeausbeute. Hektolitergewicht, Proteingehalt und Kornertrag korrelierten statistisch nicht signifikant mit dem Stärkegehalt (Tabelle 2). Triamant und Agrano zeigten mit 71,9 bzw.

71,4% um 2 bis 3% höhere Stärkewerte als Versus, Rambus und Madilo.

**Wintertriticale 2006**

Das Jahr 2006 brachte im Vergleich zu 2005 und 2007 ein kleinkörnigeres (um 5 bis 7 g geringeres Tausendkorngewicht) und um 2 bis 4% proteinreicheres Erntegut. Dem entsprechend blieben die Stärkegehalte 3 bis 4% darunter

(durchschnittlich 67%). Mangelnde Wasserversorgung und übernormale Temperaturen limitierten die Photosynthese und damit die Stärkeeinlagerung (vgl. KUČEROVÁ 2007). Agrano, Polego und Triamant hatten mit 67,8 bzw. 67,6% nur wenig mehr Stärke als Madilo, Ticino und Tremplin.

**Wintertriticale 2007**

Trotz zeitweiligem Trockenstress war die Kornausbildung in den ausgewählten Versuchen meist günstig, die Proteingehalte lagen im Mittel bei 10,3%. Mit durchschnittlich 69,5% Stärke wurde nahezu das Niveau von 2005 erreicht. Der zwischensortliche Zusammenhang von Protein- und Stärkegehalt war straffer als in den vorangegangenen Jahren ( $r = -0,71^*$ ). NORD 00824/01 (Tulus) zeigte mit durchschnittlich 71,9% Stärke ein beachtliches Niveau, es folgen Mungis, Presto und Triamant. Im Stärkeertrag dominierten NORD 00824/01 (Tulus), Triamant und Mungis.

**Intravarietale Beziehung (Wintertriticale 2005 bis 2007)**

Die Analyse von 10 Versuchen und 4 Triticalesorten (Madilo, Mungis, Polego, Triamant) belegt, dass der Stärkegehalt überwiegend von der Variation der Merkmale Rohprotein ( $r = -0,67^*$  bis  $r = -0,86^{**}$ ) und Tausendkorngewicht ( $r = 0,56^*$  bis  $r = 0,89^{**}$ ) bestimmt wird (Tabelle 3, Abbildung 4). Das Hektolitergewicht weist mit dem Stärkegehalt Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,00$  bis  $r = 0,70^*$  auf. Bei kleinkörnigem, geschrumpftem und proteinreichem Erntegut ist demnach mit geringeren Ausbeuten zu rechnen. In Regionen mit kühleren Julitemperaturen und schwächerer Belastung durch Abreifepilze, beispielsweise im Waldviertel, bringt Triticale mehrheitlich höhere Stärkewerte als im Pannonikum oder Alpenvorland.

**Zusammenfassung**

**Winterweizen**

Die Analyse von 28 einfaktoriellen Feld-

Tabelle 4: Wintertriticale - Mittelwerte von Parametern der äußeren Kornqualität, Kornertrag, Stärkegehalt und Stärkeertrag (10 Versuche von 2005 bis 2007, 4 Sorten)

Getreideart/ Sorte	Zulassungsjahr	Tausendkorngewicht g TS	Hektolitergewicht kg/hl	Rohprotein % TS	Kornertrag dt/ha 86% TS	Stärkegehalt % TS	Stärkeertrag dt/ha TS
Madilo	2006	32,8	71,0	11,8	79,6	67,7	46,4
Mungis	2007	33,5	71,7	10,9	84,6	69,4	50,5
Polego	2000	32,4	72,4	11,6	80,6	69,2	48,0
Triamant	2003	36,9	70,2	10,6	88,6	70,0	53,3

**Tabelle 5: Stärkegehalte (% , adjustierte Mittelwerte) in einem ausgewählten Sortiment von Winterweizen (Versuche 2005 bis 2007)**

Feucht- und Übergangslagen	Stärke %	Trockengebiet
Winnetou, Papageno	69,6-69,8	SZD 7912A
Jenga, Vitus, LEU50204	69,3-69,5	
Plutos, SCHW 140-94-17	69,0-69,2	
Belmondo, Augustus, Toras, Megas	68,7-68,9	Toras, Balaton
Br 4739c32	68,4-68,6	Manhattan, Ludwig, SZD 9369
Manhattan	68,2-68,3	
Globus, Chevalier, Rainer, Ludwig	67,9-68,1	
Capo	67,6-67,8	Rainer, Eurofit
Kerubino, Mulan	67,3-67,5	SW Maxi, SZD 9566
Lahertis, SZD 7916A, SZD 7913	67,0-67,2	Capo
Levendis	66,6-66,9	

**Tabelle 6: Stärkegehalte (% , adjustierte Mittelwerte) in einem ausgewählten Sortiment von Wintertriticale (Versuche 2005 bis 2007)**

Trockengebiet, Alpenvorland, Steiermark	Stärke, %	Wald- und Mühlviertel
	72,6-73,5	NORD 00824/01 (Tulus)
	71,6-72,5	Tremplin
NORD 00824/01 (Tulus)	70,6-71,5	Agrano, Mungis, Presto, Triamant
Presto	69,6-70,5	Polego, Ticino, Trisidan
Triamant, Mungis, Polego	68,6-69,5	Madilo, Versus
Ticino, Agrano	67,6-68,5	Rambus
Versus, Rambus, Tremplin, Trisidan, Madilo	66,5-67,5	

versuchen der Jahre 2005 bis 2007 lässt Einflüsse von Sorten, Jahren, Standorten und Stickstoffdüngung auf den Stärkegehalt erkennen. Der Stärkegehalt zeigte eine Spannweite von 64,4 bis 72,6% (TS), die genotypische Variation betrug 3,1% (66,6 bis 69,7%). Bei den im pannonischen Trockengebiet geprüften Weizen brachten SZD 7912A, Balaton, Toras, Ludwig und Manhattan höhere Stärkeausbeuten. Im Feuchtgebiet dominierten Winnetou, Papageno, Jenga, Vitus, LEU50204, SCHW 140/94-17, Plutos, Belmondo, Augustus, Toras und Megas. Die niedrigsten Werte (im Mittel 66,6%) wurden bei Levendis festgestellt (Tabelle 5).

Die Stärkeerträge variierten von 89,1 bis 106,9% (Trockengebiet) bzw. von 94,1 bis 106,6% (Feuchtlagen). Sie waren zu mehr als 82% von den Kornerträgen bestimmt. In Ostösterreich erreichten Rainer, SZD 7912A, Balaton und SZD 9369 die höchsten Stärkeerträge. In den Feucht- und Übergangslagen waren Papageno, Lahertis, Megas, Winnetou, SCHW 140-94-17 und Jenga erfolgreich. Intervarietal war mehrheitlich eine signifikant negative Beziehung zwischen Protein- und Stärkegehalt nachweisbar ( $r = -0,38$  n.s. bis  $r = -0,95^*$ , Mittelwerte der Serien). Eine Züchtung auf niedrigen Proteingehalt dürfte für überdurchschnittliche Stärke- und Ethanolausbeu-

ten am effizientesten sein. Jedoch ist der Zusammenhang schwächer ausgeprägt als intravarietal. Sorten gleichen Proteingehalts können in der Stärkeausbeute markant differenzieren. Ein genetisch hohes Tausendkorn- und Hektolitergewicht ist im Vergleich zum Proteingehalt weniger relevant.

Die intravarietale Auswertung (18 Versuche im Feuchtgebiet, 8 Sorten) belegt, dass der Stärkegehalt wesentlich von den Schwankungen des Proteingehalts geprägt wird ( $r = -0,47^*$  bis  $r = -0,83^{**}$ ). Anders als bei Triticale hatten höhere Tausendkorn- und Hektolitergewichte keinen positiven Einfluss auf den Stärkeanteil.

#### Wintertriticale

Bei Triticale (12 Versuche) lagen die Stärkegehalte zwischen 64,1 und 74,1% (Gesamt). Ähnlich wie bei Weizen war die Qualität des Erntegutes in Hinblick auf die Nutzung als Ethanolgetreide in den Jahren 2005 und 2007 besser als 2006. Die genotypische Variation des Stärkegehalts beträgt 4,4% (67,3 bis 71,7% Stärke) und ist größer als im Weizensortiment. Die höchsten Stärkewerte zeigten NORD 00824/01 (Tulus), Presto, Triamant und Mungis. Unbefriedigende Gehalte erzielten Rambus und Versus (Tabelle 6). Die Stärkeerträge differierten von 84,2 bis 113,2% (Trockengebiet,

Alpenvorland und Steiermark) bzw. von 90,1 bis 109,1% (Mühl- und Waldviertel). Sie waren zu mehr als 84% von der Variation der Kornerträge bestimmt. Die höchsten Stärkeerträge (Gesamtgebiet) brachten NORD 00824/01 (Tulus), Triamant und Mungis.

Intervarietal war lediglich 2007 eine negative Beziehung zwischen Protein- und Stärkegehalt gegeben. Ein sortentypisch niedriger Proteingehalt ist für überdurchschnittliche Stärke- und Ethanolgehalte zwar nicht bedeutungslos, einem genetisch höheren Tausendkorn- und Hektolitergewicht kommt im Vergleich zu Weizen jedoch mehr Gewicht zu.

Intravarietal (10 Versuche, 4 Sorten) wird der Stärkegehalt überwiegend von der Variation in den Merkmalen Rohprotein ( $r = -0,67^*$  bis  $r = -0,86^{**}$ ) und Tausendkorngewicht ( $r = 0,56^*$  bis  $r = 0,89^{**}$ ) bestimmt.

#### Danksagung

Die Ergebnisse wurden im Rahmen eines vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt- und Wasserwirtschaft geförderten Forschungsprojektes (Nr. 100197, Akronym: GEM-BEOL) erzielt.

#### Literatur

- FARACK, M., C. GUDDAT, E. SCHREIBER, G. BARTHELMES, M. BÖHME und M. SACHER, 2007: Sortenempfehlungen für die Produktion von Bioethanol. Getreidemagazin 4, 244-249.
- KRATSCHE G., 2003: Rohstoff für Bioethanol. Vergleich von Wintergetreidearten, Sortenwahl und Anbaugestaltung. Neue Landwirtschaft 7, 42-44.
- KUČEROVÁ, J., 2007: The Effect of Year, Site and Variety on the Quality Characteristics and Bioethanol Yield of Winter Triticale. Journal of the Institute of Brewing (Brno) 113, 2, 142-146.
- ROSENBERGER, A., H.-P. KAUL, T. SENN und W. AUFHAMMER, 2000: Optimierung der Produktion von Wintergetreide zur Bioethanolherstellung durch unterschiedlich intensive Anbauverfahren. J. Agronomy and Crop Science 185, 55-65.
- SCHÄFER, V., 1995: Effekte von Aufwuchsbedingungen und Anbauverfahren auf die Eignung von Korngut verschiedener Getreidebestände als Rohstoff für die Bioethanolproduktion. Diss., Universität Hohenheim.
- STÖLKEN, J., V. MICHEL und G. PIENZ, 2006: Bioenergie aus der Landwirtschaft - eine neue Herausforderung für das regionale Sortenwesen. III. Getreide für die Ethanolproduktion. S. 1-6. <http://ifa.info-agrarportal.de/index.php?content/view/full/2210>.



# Netzwerk der Kartoffel - Genexpression aktiviert durch verschiedene Photoperioden

J. RODEWALD, F. TROGNITZ und B. TROGNITZ

## Einleitung

Die Kontrolle der Kraut- und Knollenfäule der Kartoffel ist weltweit und in Österreich nur durch teuren Pflanzenschutzmittel-Einsatz gewährleistet. Dauerhafte Resistenz der Pflanze, deren Wirkung unabhängig von den Rassen des Erregers ist, wäre eine alternative Kontrollmethode; diese ist jedoch in der Praxis noch von geringer Bedeutung infolge ihrer engen Korrelation mit der für die Produzenten ungünstigen Spätreife im Langtag. Durch Hybridisierung von mRNA-Populationen verschiedener Kartoffelsorten mit einem cDNA-Microarray sollen Schlüsselemente genetisch-physiologischer Wechselwirkungen und die Verknüpfung von Tageslängenreaktion, Reife und Resistenz untersucht werden.

## Material und Methoden

### Produktion des Microarrays

3860 cDNA-Klone der Knollenfäule-infizierten Kartoffelsorte Yungay wurden auf Luria Bertani-Medium kultiviert und die transgenen Plasmide mittels Templi phi rolling circle Amplifikation vermehrt. Durch Polymerase-Kettenreaktion (PCR) wurden die in den Plasmiden enthaltenen Kartoffel-Inserts amplifiziert und die Produkte mittels Gelelektrophorese auf Nukleotidlänge, Konzentration und Reinheit untersucht. Die drei großen Literaturdatenbanken PubMed, Current Contents/Agriculture, Biology & Environmental Sciences und Scirus wurden nach Informationen über Gene und Proteine mit erwiesener Bedeutung für Reife, Tageslängenreaktion oder Resistenz durchsucht, welche gemeinsam mit komplementärer Information aus den Sequenzdatenbanken des National Center for Biotechnology Information, NCBI, in einen Excel-Index aufge-

nommen wurden. Die Sequenzen der gelisteten Gene wurden gegen die TIGR Kartoffelklon-Datenbank geblastet, verfügbare Klone wurden bestellt, und die Inserts wurden entsprechend oben beschriebenem Verfahren multipliziert. Auf beschichteten Objektträgern wurden 1177 der indizierten ESTs und zusätzlich 3475 PCR-Produkte der normalisierten cDNA-Bibliothek, welche das Transkriptom der Knollenfäule-infizierten Sorte Yungay repräsentiert, gespottet.

### Klimakammer-Pflanzenversuch

Um das unterschiedliche Knollenfäule-Resistenzverhalten verschiedener Genotypen nach unterschiedlichen Photoperioden zu untersuchen wurde ein Klimakammerversuch durchgeführt. 8 verschiedene Sorten unterschiedlicher Resistenz und Photoperiodensensitivität wurden Photoperioden von 8h bzw. 15h ausgesetzt und anschließend mit virulenten *Phytophthora infestans*-Stämmen inokuliert.

### Transkriptomanalyse

Gesamt-RNA aus 24h p.i. geernteten Blättern wurde isoliert und zur Qualitätskontrolle elektrophoretisch. Um Genexpressions-Vergleiche durchzuführen wurde der mRNA-entsprechende cDNA auf den Array hybridisiert. Die Reproduzierbarkeit wurde sichergestellt durch Errechnung der log ratio Korrelationen technischer Replikate innerhalb und zwischen den Labelingmethoden.

### Ergebnisse und Ausblick

Um aus den Expressionsdaten Aussagen über physiologische Ereignisse ableiten zu können, haben wir eine lokale Datenbank mit Kontextinformation über die Targets eines thematischen cDNA-Microarray erzeugt. Der hergestellte Microarray umfasst 4671 Sonden für

3487 unterschiedliche Transkripte und wird genutzt um die Wechselwirkungen der metabolischen Pfade zu untersuchen, auf welchen die beiden ökonomisch bedeutsamen Eigenschaften Resistenz und Tageslängensensitivität der Kartoffel basieren. PCR und Cy-Labeling erhöhte gegenüber Alexa-Labeling in technischen Replikaten M-Wert-Korrelation ausgewählter Gene und die Sensitivität mit einer Detektion von 474 anstelle von 12 Genen bei  $P < 0,003$ . Die tageslängensensitive Kartoffelsorte MF-II reagierte auf kurze Tageslängen unter anderem mit differenzieller Regulation von 4 Calmodulin- und einem Calmodulin-ähnlichem Gen. Wir hoffen, durch die Auswertungen zur Erklärung des postulierten Zusammenhangs zwischen cytoplasmatischem Calcium (BALAMANI et al. 1986), differentieller Regulierung von Calmodulinen (TAKEZAWA et al. 1995) und der Induktion der Knollenbildung beizutragen.

## Literatur

- COLLINS, A., D. MILBOURNE, L. RAMSAY, R. MEYER, C. CHATOT-BALANDRAS, P. OBERHAGEMANN, W. DE JONG, C. GEBHARDT, E. BONNEL and R. WAUGH, 1999: QTL for field resistance to late blight in potato are strongly correlated with maturity and vigor. *Molecular Breeding* 5 (5): 387-398.
- BALAMANI, V., K. VELUTHAMBI, B.W. POOVAIAH, 1986: Effect of Calcium on tuberization in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Plant Physiol* 80 (4): 856-858.
- TAKEZAWA, D., Z.H. LIU, G. AN, B.W. POOVAIAH, 1995: Calmodulin gene family in potato: developmental and touch-induced expression of the mRNA encoding a novel isoform. *Plant Mol Biol* 27 (4): 693-703.

## Danksagungen

Michael STIERSCHNEIDER, Agnes BURG, Klemens VIERLINGER, Anton GRAHSL, Ildiko MATUSIKOVA, Holger BOHLMANN, Dagmar SZAGASITS.

**Autoren:** Dipl.-Ing. Jan RODEWALD, Friederike TROGNITZ, Bodo TROGNITZ, Austrian Research Centers GmbH - ARC, Biogenetics and Natural Resources, Department of Bioresources, A-2444 SEIBERSDORF, jan.rodewald@arcs.ac.at

# Evaluierung der agronomischen und qualitativen Eigenschaften von Winterweizen (*Triticum aestivum* L.) im Kosovo

S. SALIHU, H. GRAUSGRUBER und H.-P. KAUL

## Einleitung

Weizen ist eine der wichtigsten Kulturarten im Kosovo. Jährlich werden ungefähr 80.000-100.000 ha Winterweizen angebaut. Der Durchschnittsertrag liegt bei 2500-3000 kg ha<sup>-1</sup>. Damit ist die Selbstversorgung mit Brotweizen im Kosovo nicht gewährleistet und Konsumweizen muss importiert werden. Auch Saatgut wird größtenteils aus den Nachbarländern importiert. Bis heute sind keine eigenen Sorten für die Vermehrung vorhanden. Im Markt dominieren ausländische Sorten wie Europa, Pobeda, Renesansa, NS Rana 5, Lenta, Luna, Lara, Brutus, Justus, Ana oder Soissons. Aus diesem Grund es ist wichtig, geeignete Weizensorten mit entsprechender Backqualität für den Kosovo zu selektieren, welche stabile und zufriedenstellende Erträge bei guter Qualität liefern.

## Material und Methoden

49 Winterweizenlinien (F2:5, F2:6) und fünf Standardsorten, die in der

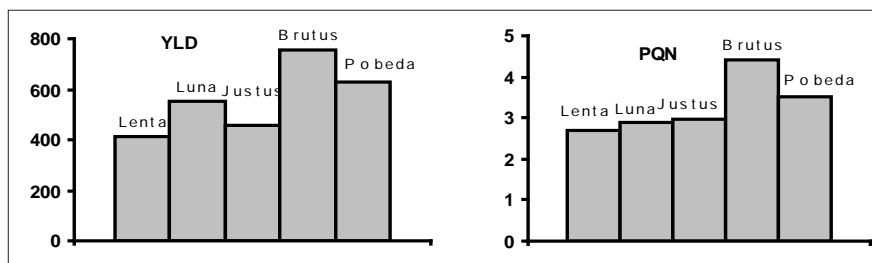


Abbildung 1: Darstellung von Kornertrag (g m<sup>2</sup>) und Promylograph Qualitätszahl der Standardsorten

nationalen Sortenliste des Kosovos eingetragen sind (Pobeda, Justus, Brutus, Lenta, Luna) wurden 2005 und 2006 untersucht. Der Feldversuch wurde in der Region Rrafshi i Kosovës durchgeführt (500-600 m Seehöhe, Jahresdurchschnittstemperatur 10°C, durchschnittliche Jahresniederschlagsmenge 640 mm). Bestimmt wurden: Ertrag, Tausendkorngewicht, Hektolitergewicht, Protein- und Feuchtklebergehalt (NIT), SDS-Sedimentationswert (DICK and QUICK 1983), die hochmolekulare (HMW) Gluteninallele (PAYNE et al. 1987), Promylograph- und Mikroexten-

sograph-Parameter (GRAUSGRUBER et al. 2002). Darüberhinaus wurde ein Backversuch durchgeführt.

## Ergebnisse und Diskussion

Der durchschnittliche Ertrag der Standardsorten lag bei 5600 kg ha<sup>-1</sup>. Brutus zeigte die höchsten Werte sowohl für die agronomischen als auch die qualitativen Eigenschaften (Abbildung 1). Die gute Anpassung von Brutus an die kosovarischen Klimabedingungen ist nicht erstaunlich, da diese Sorte für das Pannonikum selektiert wurde und die Bedingungen (trockene Sommer) ähnlich

Tabelle 1: Darstellung von Standardsorten und Kreuzungslinien

Eigenschaft <sup>1</sup>	Standardsorten			Kreuzungslinien		
	Min	Max	Mittelwert	Min	Max	Mittelwert
KOE	315,0	882,0	560,0	692	1073	871,9
TKG	35,9	59,5	49,0	55,5	66,2	60,1
HLG	77,2	83,2	80,7			
PROT	11,8	17,6	14,5	10,0	14,3	12,0
SDS	61,5	98,0	78,5			
Promylograph						
PKL	3,2	7,0	6,0	7,0	7,0	7,0
PTE	25,0	46,9	39,6	28,6	35,7	31,3
PQN	2,0	5,8	3,3	2,0	4,0	3,1
Extensograph						
R <sub>m</sub>	23,0	44,0	36,8	13,0	44,7	27,9
A'	861,2	1548,0	1231,1	480,8	1616,8	891,4
E'	33,9	79,5	56,4	29,4	88,3	47,3
VOLU	336,0	446,2	401,3			

<sup>1</sup> KOE, Kornertrag (g m<sup>-2</sup>); TKG, 1000-Korngewicht (g); HLG, Hektolitergewicht (kg hl<sup>-1</sup>); PROT, Proteingehalt (%); SDS, SDS-Sedimentationwert (ml); PKL, Promylograph Kurvenlänge (min); PTE, Promylograph Teigerweichung (PU cm<sup>-1</sup>); PQN, Promylograph Qualitätszahl (Kurvenlänge bis 450 PE) (min); R<sub>m</sub>, max. Resistenz (g); E', Dehnbarkeit (mm); A', Fläche (g mm); VOLU, Brotvolumen (cm<sup>3</sup> 100 g<sup>-1</sup> Mehl)

**Autoren:** Dr. Salih SALIHU, Dr. Heinrich GRAUSGRUBER und Univ.Prof. Dr. Hans-Peter KAUL, Department of Applied Plant Sciences and Plant Biotechnology (DAPP) Institute of Agronomy and Plant Breeding (IPP), Universität für Bodenkultur Wien, Gregor Mendel-Straße 33, A-1180 WIEN, salih.salihu@boku.ac.at

sind. Die ansprechende Qualität kann teilweise durch die günstigen HMW Glutininallele 2\*/7+9/5+10 erklärt werden (GRÖGER et al. 1997).

In *Tabelle 1* sind Maxima, Minima und Mittelwerte der untersuchten Parameter dargestellt. Die Kreuzungslinien zeigten deutlich höhere Mittelwerte hinsichtlich agronomischer Eigenschaften, aber niedrigere Mittelwerte bei den meisten Qualitätsmerkmalen. Betrachtet man allerdings die maximalen Werte wird deutlich, dass die höchsten Werte für die Kreuzungslinien erreicht wurden, mit Ausnahme von Proteingehalt und

PQN. Trotz der etwas niedrigeren Proteingehalte stellen diese Kreuzungslinien aufgrund der guten agronomischen Leistung und den guten rheologischen Eigenschaften einen viel versprechenden Genpool für die Selektion ertragreicherer Qualitätsweizen für den Kosovo dar.

### Schlussfolgerungen

Die Sorte Brutus ist sehr gut an die kosovarische Anbaubedingungen angepasst und somit kann den Landwirten empfohlen werden diese Sorte auch in nächster Zukunft anzubauen. Die neu geschaffenen Kreuzungslinien stellen

einen vielversprechenden Genpool für die weitere Selektion, sowohl hinsichtlich agronomischer als auch qualitativer Eigenschaften dar.

### Literatur

- DICK, J.W. and J.S. QUICK, 1983: Cereal Chem. 60, 315-318.
- GRAUSGRUBER, H. G. SCHÖGGL and P. RUCKENBAUER, 2002: Eur. Food Res. Technol. 214, 79-82.
- GRÖGER, S., M. OBERFORSTER, M. WERTKER, H. GRAUSGRUBER and T. LELLEY, 1997: Cereal Res. Commun. 25, 955-962.
- PAYNE, P.I., M.A. NIGHTINGALE, A.F. KRATTINGE and L.M. HOLD, 1987: J. Sci. Food Agric. 40, 51-65.