



Tagungsband

63. Tagung

19. - 21. November 2012

Resistenz gegen biotischen Stress
in der Pflanzenzüchtung

Resistenz gegen abiotischen Stress
in der Pflanzenzüchtung

Vereinigung der Pflanzzüchter
und Saatgutkaufleute Österreichs

63. Tagung

19. - 21. November 2012

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

Höhere Bundeslehr- und Forschungsanstalt
für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein



Impressum

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

Herausgeber

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

Für den Inhalt verantwortlich
die Autoren

Redaktion

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

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

Univ.Doiz. Dr. Karl Buchgraber
Lehr- und Forschungszentrum für Landwirtschaft Raumberg-Gumpenstein (LFZ)

Layout

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

Druck, Verlag und © 2013

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

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

Vorwort

Michael Gohn^{1*}

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

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

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

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

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

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

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

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

Inhaltsverzeichnis

Table of contents

Molecular breeding for virus resistance in cereals - present state and future perspectives1 Frank Ordon, Antje Habekuß, Edgar Schliephake, Dragan Perovic, Ilona Krämer and Christine Riedele	1
Die Übertragung einer hochwirksamen Resistenz gegenüber BYDV aus <i>Hordeum bulbosum</i> für die Gerstezüchtung3 Brigitte Ruge-Wehling, Janine Wojacki, Kristin Fischer, Björn Rotter und Peter Wehling	3
Resistenzzüchtung beim Steirischen Ölkürbis7 Martin Pachner, Johanna Winkler und Tamas Lelley	7
Studies on grass viruses in Austria11 Frank Rabenstein and Herbert Huss	11
Evaluation of disease resistance in wheat supplemented with <i>Pm3b</i>15 Fabio Mascher, Caterina Matasci, Yvan Kneubuehler, Susanne Brunner, Arnold Schori and Beat Keller	15
Fusarium head blight resistance in modern winter wheat: association of plant morphological traits with resistance and relation of resistance to <i>F. graminearum</i> with resistance to <i>F. sporotrichioides</i>19 Hermann Buerstmayr, Maria Buerstmayr, David Bloech, Marc Lemmens, Jutta Förster, Laure Duchalais, Delphine Hourcade, Laurent Guerreiro, Valerie Laurent and Olivier Robert	19
Mapping of QTL for Fusarium head blight resistance in three backcross populations derived from <i>Triticum dicoccum</i> × <i>T. durum</i>21 Maria Buerstmayr, Karin Huber, Johannes Heckmann, Barbara Steiner, James C. Nelson and Hermann Buerstmayr	21
Kombinierte Krankheitsresistenzen bei Weizen durch quantitative Breitspektrumsresistenz23 Thomas Miedaner und Peter Risser	23
Auswirkungen geänderter Pflanzenschutzrahmenbedingungen auf die Pflanzenzüchtung27 Gottfried Besenhofer	27
Use of beneficial microorganisms for crop improvement29 Friederike Trognitz, Birgit Mitter, Naveed Muhammad, Günter Brader and Angela Sessitsch	29
Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag bei Sojabohnen (<i>Glycine max</i>)33 Benno Voit, Georg Salzeder und Berta Killermann	33
EU-Verordnung für Vermehrungsgut - Stand der Diskussion37 Heinz-Peter Zach	37
Evaluation of the dominant dwarfing gene <i>Ddw1</i> with respect to its use in hybrid rye breeding41 Bernd Hackauf, Maria T. Goldfisch, Dörthe Musmann, Gilbert Melz and Peter Wehling	41
Sortenprüfung der Anfälligkeit gegenüber Streifenkrankheit der Gerste und Weizensteinbrand43 Manfred Weinhappel, Michael Oberforster, Clemens Flamm und Martin Plank	43
Association mapping for common bunt resistance in wheat49 Philipp Steffan, Anders Borgen, Søren K. Rasmussen, Jihad Orabi and Gunter Backes	49
Wheat screening for resistance to common bunt and dwarf bunt51 Veronika Dumalasová and Pavel Bartoš	51
Nachweis über die Dauer der Infektionsfähigkeit von Steinbrand- (<i>Tilletia caries</i>) und Zwergsteinbrandsporen (<i>T. controversa</i>) im Boden und Stallmist unter Berücksichtigung verschiedener Fruchtfolgen in Biobetrieben55 Robert Bauer, Benno Voit, Berta Killermann und Kurt-Jürgen Hülsbergen	55

Probleme mit Auswinterung, Trockenstress, Virose, Spätfrost und Zwiewuchs bei Weizen und Wintergerste im Jahr 2012 in Österreich	57
Michael Oberforster	
Untersuchungen der Reaktionen verschiedener Gerstegenotypen auf zukünftige CO₂-Konzentrationen als Grundlage zur züchterischen Optimierung des „CO₂-Düngeeffektes“	65
Esther Mitterbauer, Frank Ordon, Antje Habekuß, Martin Erbs, Matthias Enders, Benjamin Kilian, Hans-Joachim Weigel, Anette Giesemann und Jürgen Bender	
Effect of elevated atmospheric CO₂ level on the abiotic and biotic stress tolerance of cereals	69
Szilvia Bencze, Krisztina Balla, Tibor Janda, Gyula Vida and Ottó Veisz	
Feldstudien zur Vererbung der Trockenheitstoleranz von Hybridroggen in Mitteleuropa	73
Stefan Haffke, Marlen Hübner, Peer Wilde, Brigitta Schmiedchen, Barbara Kusterer, Bernd Hackauf und Thomas Miedaner	
Genetische Variabilität von Sommergerste unter Trockenstress in einem Rain Out Shelter	77
Gabriela Reichenberger, Chris-Carolin Schön und Markus Herz	
Durum in a changing climate - drought stress during growing seasons in Syria	83
Manuela Nagel, Sheeba Navakode, Miloudi Nachit, Michael Baum, Marion S. Röder and Andreas Börner	
Praktische Anwendbarkeit von Trockenstressparametern für die Weizenzüchtung	87
Clemens Flamm, Sabrina Scheriau, Elisabeth Zechner, Maren Livaja und János Pauk	
Hohe Glucosinolatgehalte in Raps - eine Folge der Klimaänderung	95
Manfred Werteker, Klemens Mechtler und Gabriela Kramreither	
Association mapping for pre-harvest sprouting tolerance in European winter wheat (<i>Triticum aestivum</i> L.) germplasm	97
Volker Mohler, Michael Oberforster and Lorenz Hartl	
Study of yield components under heat stress conditions in wheat	99
Krisztina Balla, Ildikó Karsai, Szilvia Bencze, Tibor Kiss and Ottó Veisz	
Roggenschwarzrost, <i>Puccinia graminis</i> f. sp. <i>secalis</i>, mit resistenten Sorten kontrollieren	103
Kerstin Flath, Bettina Klocke, Anne Kristin Schmitt, Brigitta Schmiedchen, Peer Wilde, Hartmut Spieß und Thomas Miedaner	
Selection for drought resistance of wheat using electrical capacity measurements as indicators for root system size	107
Anna Hermanska, Ladislav Blaha and Irena Bizova	
Effect of different soil moisture and meteorological conditions on the water regime of maize (<i>Zea mays</i> L.)	109
Jana Klimešová, Tomáš Středa and Karel Drápal	
CORNET EFFICIENT WHEAT - Improving nitrogen efficiency in European winter wheat under drought stress	113
Maren Livaja, Manuela Diethelm, Adelheid Castell and Lorenz Hartl	
Einfluss von Reifeunterschieden auf das Auswuchsverhalten und die Fallzahl von Winterweizensorten	117
Michael Oberforster, Anton Neumayer, Elisabeth Zechner und Lorenz Hartl	
Differences in the drought stress response of winter wheat	121
Eva Truhlářová, Tereza Ryšková, Pavlína Smutná, Ludmila Holková and Jana Klimešová	

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

Frank Ordon^{1*}, Antje Habekuß¹, Edgar Schliephake¹,
Dragan Perovic¹, Ilona Krämer¹ and Christine Riedele¹

Abstract

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

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

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

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

Keywords

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

References

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

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

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

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

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

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

Brigitte Ruge-Wehling^{1*}, Janine Wojacki¹, Kristin Fischer¹, Björn Rotter² und Peter Wehling¹

Abstract

Barley yellow dwarf virus (BYDV) causes high yield losses worldwide. Thereby aphids play an important role as virus vectors. Yield losses caused by BYDV may be reduced using virus-tolerance genes from the primary genepool of barley. Additionally, complete resistance to the virus was introgressed from the secondary genepool via interspecific crosses with the tetraploid wild species *Hordeum bulbosum* (*Hb*). Previous studies indicate that this resistance was introgressed to barley chromosome 3HL and is governed by a dominant gene, *Ryd4^{Hb}*. In the present study, a BC₂F₄ mapping population consisting of 140 individuals was used to establish a molecular-marker map for *Ryd4^{Hb}*. To develop molecular markers specific for the introgressed *Hb* segment, three strategies are applied: (i) using anchor markers from the barley genome, (ii) exploiting the orthology of parts of the *Hordeum* genome and the model genome of *Oryza sativa*, and (iii) performing Massive Analysis of cDNA Ends (MACE). Taken together, the approaches provide a potential of approximately 200 markers for the 3HL introgression. So far, 25 markers were mapped on 3HL including ten MACE markers. Three MACE markers are located with a distance of 0.1 to 0.5 cM to *Ryd4^{Hb}* and are of potential use for marker-assisted breeding programmes.

Keywords

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

Einleitung

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

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

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

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

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Kartierungspopulation

Die Charakterisierung des Resistenzgens *Ryd4^{Hb}* erfolgte anhand von Kreuzungsnachkommenschaften, die durch eine

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

² GenXPro GmbH, Altenhöfer Allee, D-60438 FRANKFURT AM MAIN

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

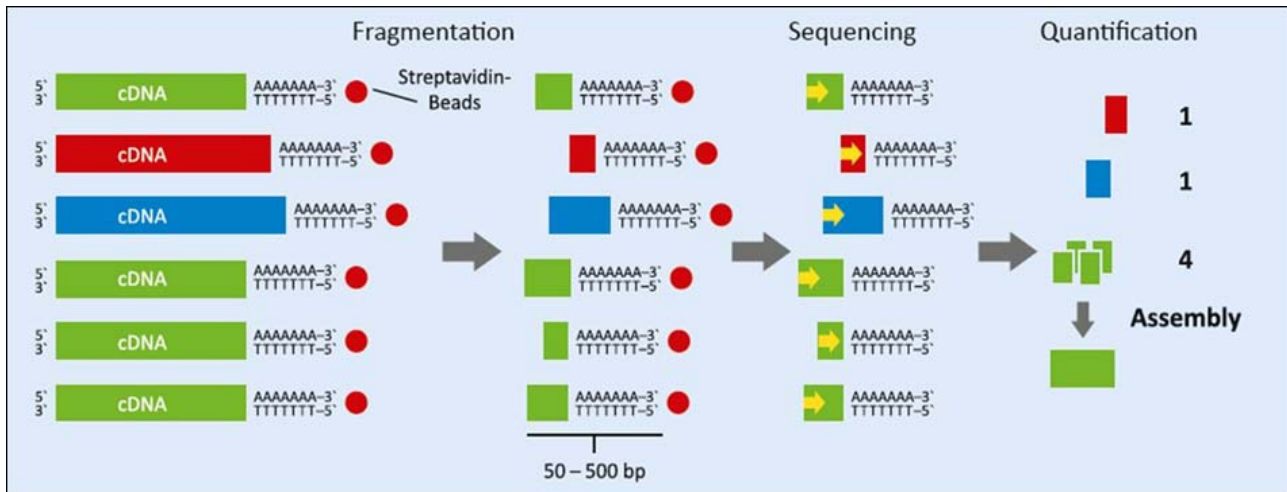


Abbildung 1: MACE-Technologie (GenXPro GmbH)

Figure 1: MACE technology (GenXPro GmbH)

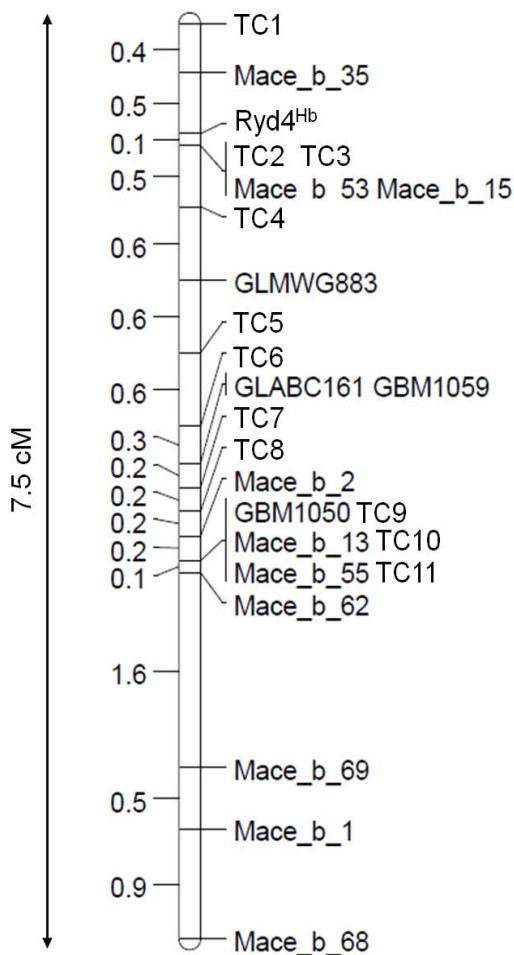


Abbildung 2: Kartierung des Resistenzgens *Ryd4^{Hb}* auf dem Gerstechromosom 3HL (TC1-11: Tentative Consensus Marker; *Mace_b_1*-*Mace_b_68*: Marker auf Basis von MACE-Sequenzen)

Figure 2: Mapping of *Ryd4^{Hb}* on the barley chromosome 3HL (TC1-11: Tentative Consensus Marker; *Mace_b_1*-*Mace_b_68*: marker based on MACE sequences)

interspezifische Kreuzung von *H. vulgare* cv. 'Igri' (Hv) mit der BYDV-resistenten Akzession A17 der Wildgerste *H. bulbosum* (Hb, Herkunft: Botanischer Garten Montevideo, Uruguay) entstanden sind (SCHOLZ et al. 2008). Durch Rückkreuzungen mit Hv und mehrere Selbstungsgenerationen wurde eine BC₂F₄ (Vollgeschwisterfamilie, N = 143 Individuen) erstellt.

Molekulare Marker

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

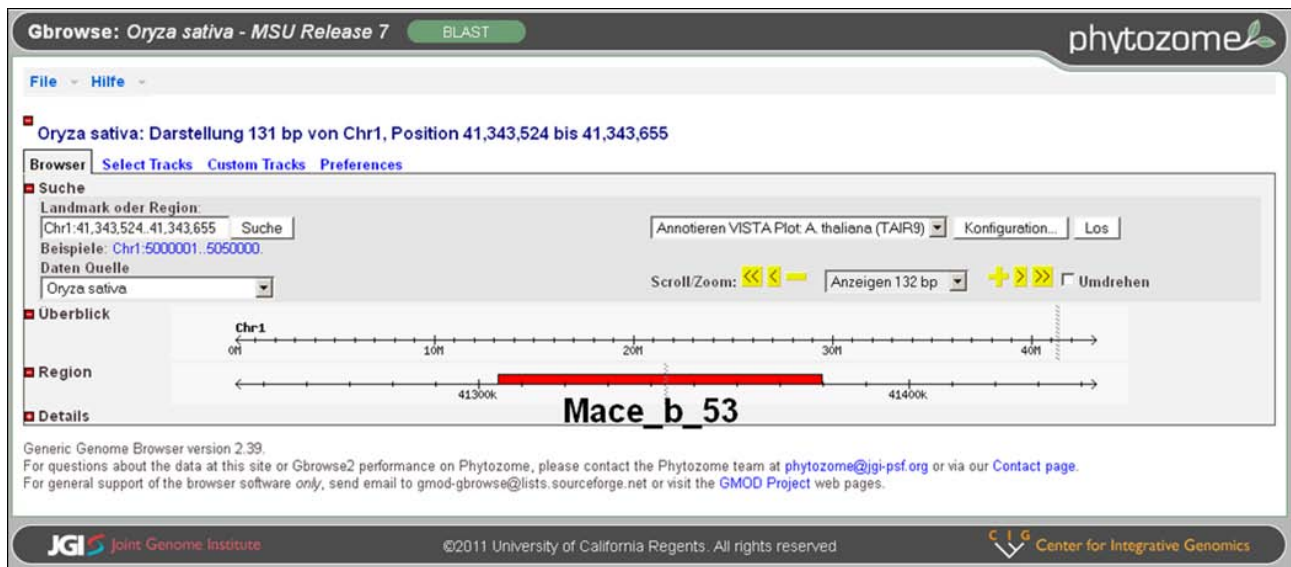


Abbildung 3: *In silico*-Kartierung des MACE-Markers *Mace_b_53* im Reischromosom R1
 Figure 3: *In silico* mapping of MACE marker *Mace_b_53* on R1

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

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

Ergebnisse und Diskussion

Die Phänotypisierungsdaten einer BC₂F₄-Kartierungspopulation wurden bereits von SCHOLZ et al. (2009) publiziert. Die monogen dominant vererbte Resistenz ist auf einer *H. bulbosum*-Introgression lokalisiert, die durch genomische *in situ*-Hybridisierung (GISH) dem Gerstechromosom 3HL zugeordnet wurde (SCHOLZ et al. 2009). Die Lokalisation der Introgression auf diesem Chromosomenarm konnte durch die enge Kopplung des Resistenzgens *Ryd4^{Hb}* mit den 3HL-SSR-Ankermarkern *GBM1050* und *GBM1059*, sowie den STS-Markern *ABC161* und *MWG883* bestätigt werden (Abbildung 2).

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

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

Primer auf Polymorphismus zwischen *H. bulbosum* und *H. vulgare* untersucht. Bisher wurden 30 polymorphe Marker entwickelt und davon zehn in der BC₂F₄-Familie genotypisiert. Die Kopplungsanalyse bestätigt die Lokalisation sämtlicher Marker auf der *H. bulbosum* Introgression auf dem Gerstechromosom 3HL. Das Markerintervall um den Resistenzlocus beträgt 0,6 cM. Die mit 0,1 cM distal von *Ryd4Hb* lokalisierten TC- und MACE-Marker sowie der proximal gelegene Marker *Mace_b_35* (0,5 cM) sind aufgrund ihrer engen Kopplung zum Resistenzgen gut als Selektionsmarker einsetzbar.

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

Danksagung

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

Literatur

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

- BURNETT PA, COMEAU A, QUALSET CO, 1995: Host plant tolerance or resistance for control of barley yellow dwarf. In: D'ARCY CJ, BURNETT PA (Eds.), Barley yellow dwarf: 40 years of progress, 321-343. APS Press, St. Paul.
- LISTER MR, RANIERI R, 1995: Distribution and economic importance of barley yellow dwarf. In: D'ARCY CJ, BURNETT PA (Eds.), Barley yellow dwarf: 40 years of progress, 29-53. APS Press, St. Paul.
- NIKS RE, HABEKUSS A, BEKELE B, ORDON F, 2004: A novel major gene on chromosome 6H for resistance of barley against the barley yellow dwarf virus. *Theor Appl Genet* 109, 1536-1543.
- RUGE B, LINZA, PICKERING R, PROESELER G, GREIF P, WEHLING P, 2003: Mapping of *Rym14th*, a gene introgressed from *Hordeum bulbosum* and conferring resistance to BaMMV and BaYMV in barley. *Theor Appl Genet* 107, 965-971.
- RUGE-WEHLING B, LINZ A, HABEKUSS A, WEHLING P, 2006: Mapping of *Rym16th*, the second soil-borne virus-resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum*. *Theor Appl Genet* 113, 867-873.
- SCHALLER CW, RASMUSSEN DC, QUALSET CO, 1963: Sources of resistance to the yellow-dwarf virus in barley. *Crop Sci* 3, 342-344.
- SCHOLZ M, RUGE-WEHLING B, HABEKUSS A, PENDINEN G, SCHRADER O, FLATH K, GROSSE E, WEHLING P, 2008: The secondary gene pool of barley as gene donor for crop improvement. In: MAXTED N, FORD-LLOYD BV, KELL SP, IRIONDO J, DULLOO E, TUROK J (Eds.), Crop wild relative conservation and use, 549-555. CAB Int Publ, Wallingford.
- SCHOLZ M, RUGE-WEHLING B, SCHRADER O, HABEKUSS A, PENDINEN G, FISCHER K, WEHLING P, 2009: *Ryd4th*, a novel resistance gene introgressed from *Hordeum bulbosum* into barley and conferring complete and dominant resistance to the barley yellow dwarf virus (BYDV-PAV). *Theor Appl Genet* 119, 837-849.
- STEIN N, PRASAD M, SCHOLZ U, THIEL T, ZHANG H, WOLF M, KOTA R, VARSHNEY RK, PEROVIC D, GROSSE I, GRANER A, 2007: A 1,000-loci transcript map of the barley genome: new anchoring points for integrative grass genomics. *Theor Appl Genet* 114, 823-839.
- SUNESON CA, 1955: Breeding for resistance to yellow dwarf virus in barley. *Agron J* 47, 283.
- UNTERGASSER A, CUTCUTACHE I, KORESSAAR T, YE J, FAIRCLOTH BC, REMM M, ROZEN SG, 2012: Primer3 - new capabilities and interfaces. *Nucl Acid Res* 40, e115.
- VAN OOIJEN JW, 2012: JoinMap® 4.1 software for the calculation of genetic linkage maps in experimental populations of diploid species. Kyazama BV, Wageningen.
- VARSHNEY RK, MARCEL TC, RAMSAY L, RUSSELL J, RÖDER MS, STEIN N, WAUGH R, LANGRIDGE P, NIKS RE, GRANER A, 2007: A high density barley microsatellite consensus map with 775 SSR loci. *Theor Appl Genet* 114, 1091-1103.

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

Resistenzzüchtung beim Steirischen Ölkürbis

Resistance breeding in Styrian oil pumpkin

Martin Pachner^{1*}, Johanna Winkler² und Tamas Lelley¹

Abstract

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

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

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

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

Material und Methoden

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

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

² Saatzucht Gleisdorf, Am Tieberhof 33, A-8200 GLEISDORF

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

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

Für künstliche Virusinfektionstests wurden die Pflanzen im Glashaus unter kontrollierten Bedingungen (23-25°C Tag, 20-22°C Nacht, 50-70% RF, Zusatzbelichtung mit Metallampfen für 14 h pro Tag) gehalten. Für die ZYMV-Infektionen verwendeten wir ein Mischisolat, das aus mehreren Einzelisolaten, die an verschiedenen österreichischen Standorten gesammelt wurden, zusammengefügt war (RIEDLE-BAUER 1998). Für die CMV-Infektionen verwendeten wir ein Isolat, das aus Fruchtfleisch von in der Steiermark gesammelten Kürbissen stammt, welches wir auf Tabakpflanzen, die nicht anfällig für ZYMV sind, isoliert haben. Das Homogenat wurde, kurz vor der Infektion, aus gefrorenen infizierten Blättern, mit 1% K_2HPO_4 Lösung als Inokulationspuffer, und Celite® 545 in einem Mörser auf Eis hergestellt. Die Infektionen erfolgten bei ZYMV durch Aufreiben des Homogenats zunächst auf die beiden Keimblätter und 3 Tage später auf das erste Laubblatt. Bei CMV-Inokulationen wurde nur das dritte Laubblatt behandelt. Die Symptome wurden 10 bzw. 24 Tage nach Infektion ausgewertet. Zur Klassifizierung der Pflanzen als resistent oder anfällig verwendeten wir eine Skala von 0 bis 9, wobei 0 als nicht infiziert, 1 bis 4 als tolerant und 6 bis 9 als anfällig bewertet wurde. Die Bonitur 5 stellt eine nicht eindeutig zuordenbare Übergangssituation dar. Es soll festgehalten werden, nachdem die Grenze zwischen Resistenz und Toleranz nicht klar definierbar ist, dass wir von leichter bis hin zu tolerabler Symptomausprägung von einer Resistenz sprechen.

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

Ergebnisse und Diskussion

Zucchini-Gelbmosaikvirusresistenz

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

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

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

Fruchtfäuleresistenz

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

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

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

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

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

Gurkenmosaikvirusresistenz

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

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

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

Mehltauresistenz

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

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

Herausforderungen der Zukunft

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

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

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

Danksagung

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

Literatur

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

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

Studies on grass viruses in Austria

Frank Rabenstein^{1*} and Herbert Huss²

Abstract

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

Keywords

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

Introduction

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

Wheat dwarf virus

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

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

New viruses

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

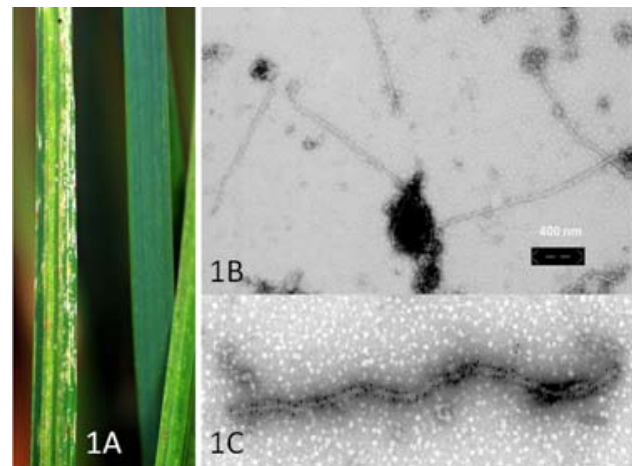


Figure 1: Symptoms in form of chlorotic and necrotic streaks along the leaf blade on cocksfoot plant sample StP1 (A), containing flexible elongated virus particles about 800 nm in length (B), which were decorated with gold labelled antibodies to *Cocksfoot streak mosaic virus* (C)

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

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

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

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

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

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

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

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

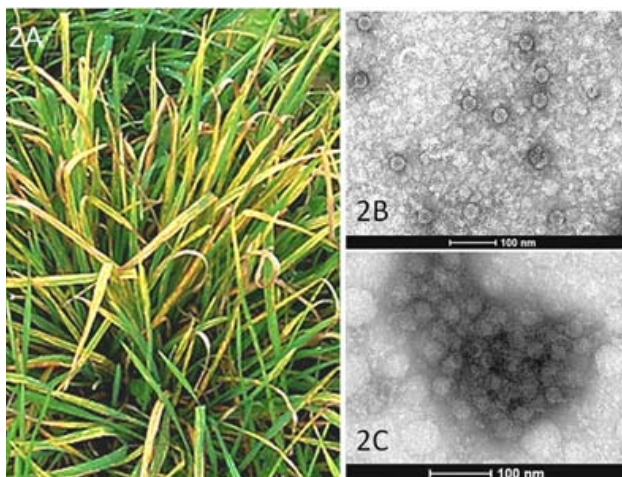


Figure 2: Chlorotic streaks and spots on cocksfoot plant sample StP2 (A), containing isometrical virus particles with a diameter of about 30 nm (B). Decorated and clumped particles after treatment with antiserum to *Ryegrass mottle virus* (C)



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

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

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

Conclusions

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

References

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

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

Evaluation of disease resistance in wheat supplemented with *Pm3b*

Fabio Mascher^{1*}, Caterina Matasci^{1,2}, Yvan Kneubuehler¹,
Susanne Brunner³, Arnold Schori¹ and Beat Keller³

Abstract

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

Keywords

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

Introduction

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

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

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

Material and Methods

Plant material

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

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

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

³ University of Zürich, Institute of Plant Biology, Zollikerstrasse 107, CH-8008 ZÜRICH

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

Experimental design

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

Artificial infections

Isolates of all pathogens have been collected on the Swiss territory and represent the virulences present (MASCHER et al. 2010, 2012a). Powdery mildew isolates (*Blumeria graminis* fsp. *tritici*) were maintained in planta and multiplied in the greenhouse on the particularly sensible genotypes ‘Kanzler’ (Saatzucht Engelen) and ‘Or²’ under cellophane bags, to keep isolates isolated. Infected plants were planted in-between the infection lines of the powdery mildew test. Yellow rust isolates (*Puccinia striiformis*) were conserved freeze-dried at 3°C and multiplied on the susceptible varieties ‘Coker’ and ‘Eridano’ (SPS Bologna). Plants presenting a big amount of spores of the pathogen were planted into the infection lines of the powdery mildew tests. Additionally, spores suspended in mineral oil were spray-inoculated. Infections in the *Fusarium* head blight resistance tests were realised with isolates of *Fusarium culmorum*. Isolates were mass-produced on humidified oat kernels in Erlenmeyer flasks. Wheat genotypes were infected 3 times at flowering at a concentration of 10⁶ spores·ml⁻¹.

Symptom scoring

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

Statistical analysis

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

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

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

Table 2: Scoring scheme for the estimation of disease severity

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

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

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

Results

Powdery mildew

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

Yellow rust

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

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

Fusarium head blight

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

Discussion

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

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

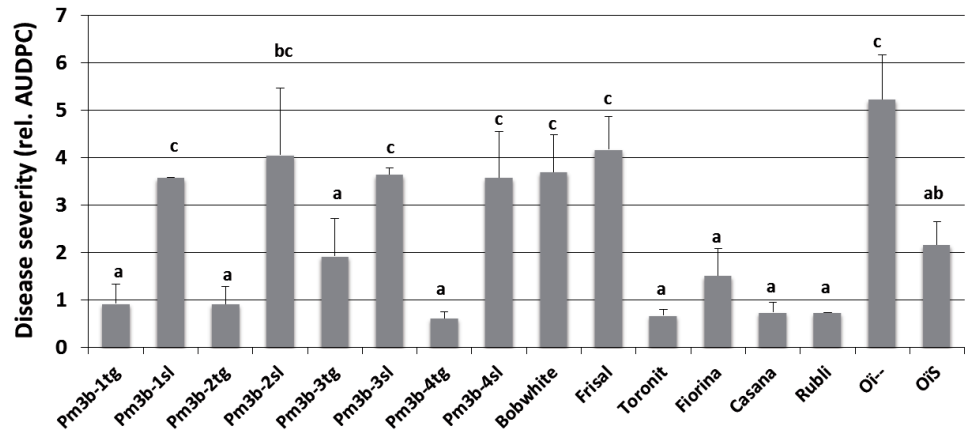


Figure 1: Disease severities of the wheat genotypes tested in the resistance test with powdery mildew. Bars designate the standard deviation; different letters indicate statistically significant differences at $P < 0.02$.

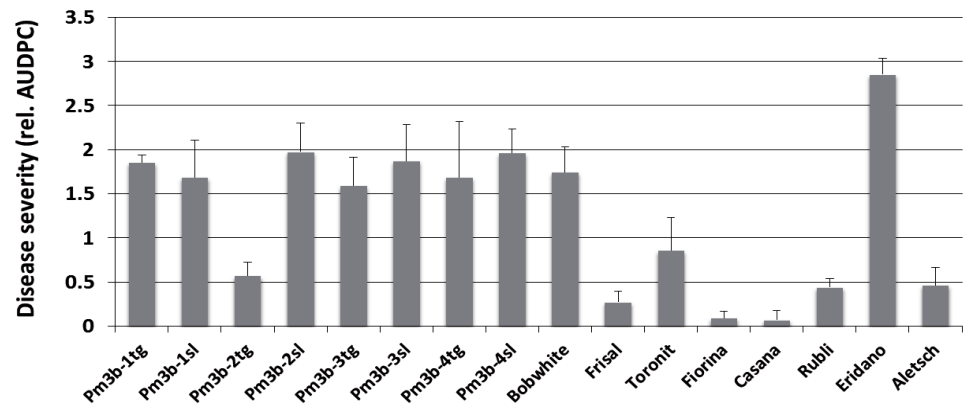


Figure 2: Disease severities of the wheat genotypes tested in the resistance test with yellow rust. Bars designate the standard deviation; different letters indicate statistically significant differences at $P < 0.02$.

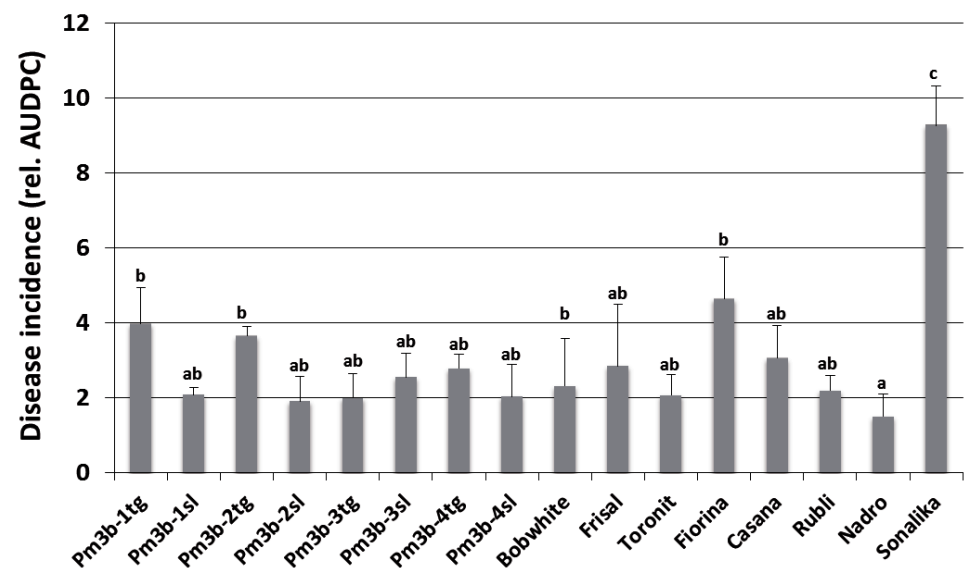


Figure 3: Disease incidences of the wheat genotypes tested in the resistance test with *Fusarium* head blight. Bars designate the standard deviation; different letters indicate statistically significant differences at $P < 0.02$.

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

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

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

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

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

Acknowledgement

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

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

References

- ALVAREZ-ALFAGEME F, VON BURG S, ROMEIS R, 2011: Infestation of transgenic powdery mildew-resistant wheat by naturally occurring insect herbivores under different environmental conditions. *Plos One* 6, e22690.
- BAIRU MW, AREMU AO, VAN STADEN J, 2011: Somaclonal variation in plants: causes and detection methods. *Plant Growth Regul* 63, 147-173.
- BREGITZER P, HALBERT SE, LEMAUX PG, 1998: Somaclonal variation in the progeny of transgenic barley. *Theor Appl Gen* 96, 421-425.
- BRUNNER S, HURNI S, HERREN G, KALININA O, VON BURG S, ZELLER SL, SCHMID B, WINZELER M, KELLER B, 2011: Transgenic *Pm3b* wheat lines show resistance to powdery mildew in the field. *Plant Biotech J* 9, 897-910.
- BUERSTMAYR H, BAN T, ANDERSON JA, 2009: QTL mapping and marker-assisted selection for *Fusarium* head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breed* 128, 1-26.
- DAVISON J, 2010: GM plants: science, politics and EC regulations. *Plant Sci* 178, 94-98.
- FOSSATI D, BRABANT C, 2003: Le sélection du blé en Suisse. Le programme des stations fédérales. *Revue suisse d’Agriculture* 35, 169-180.
- GUPTA RK, 2011: Food security, genetically modified crops and environment. *Int Proc Chem Biol Env Eng* 4, 305-310.
- HANSEN G, WRIGHT MS, 1999: Recent advances in the transformation of plants. *Trend Plant Sci* 4: 226-231.
- MASCHER F, HABERSAAT M, KELLENBERGER S, 2010: Bedroht der Gelbrost den Weizenanbau in der Schweiz? *Agrarforschung* 1, 244-251.
- MASCHER F, MATASCI C, KELLENBERGER S, BEURET B, BEURET M, BUSSLINGER G, DOERNTE J, GYGAX M, HECKER A, HEINZER L, HOCHSTRASSER M, HORNER M, KUNZ P, MERZ U, 2012: Virulenzmonitoring und Populationsstruktur des Echten Mehltaus von 2003 bis 2010. *Agrarforschung* 3, 236-243.
- MOULLET O, FOSSATI D, MASCHER F, SCHORI A, GUADAGNUOLO R., 2008: Les marqueurs moléculaires comme outils dans la sélection des céréales. *Revue suisse d’Agriculture* 40, 133-138.
- RAVEL C, MARTRE P, ROMEUF I, DARDEVET M, EL-MALKI R, BORDES J, DUCHATEAU N, BRUNEL D, BALFOURIER F, CHARMET G, 2009. Nucleotide polymorphism in the wheat transcriptional activator *spa* influences its pattern of expression and has pleiotropic effects on grain protein composition, dough viscoelasticity, and grain hardness. *Plant Physiol* 151, 2133-2144.
- SLATER A, SCOTT NW, FOWLER MR, 2008. *Plant biotechnology: The genetic manipulation of plants*, 2nd Ed. Oxford University Press, Oxford.
- SAINT PIERRE C, CROSSA JL, BONNETT D, YMAGUCHI-SHINOZAKI K, REYNOLDS MP, 2012: Phenotyping transgenic wheat for drought resistance. *J Exp Bot* 63, 1799-1808.

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

Hermann Buerstmayr^{1*}, Maria Buerstmayr¹, David Bloech¹, Marc Lemmens¹, Jutta Förster²,
Laure Duchalais³, Delphine Hourcade⁴, Laurent Guerreiro⁴, Valerie Laurent⁵ and Olivier Robert⁵

Abstract

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

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

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

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

Acknowledgments

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

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

² Saaten - Union Biotech GmbH, Hovedissen, Germany

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

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

⁵ Bioplante - Florimond Desprez, BP41, F-59242 CAPPELLE EN PÉVÈLE

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

References

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

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

Maria Buerstmayr^{1*}, Karin Huber¹, Johannes Heckmann¹,
Barbara Steiner¹, James C. Nelson² and Hermann Buerstmayr¹

Summary

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

In this study the resistance to FHB of a *T. dicoccum* line in the background of three Austrian *T. durum* cultivars was genetically characterized. Three populations of BC₁F₄-derived RILs were developed from crosses between the resistant donor line *T. dicoccum*-161 and the Austrian *T. durum* recipient varieties DS-131621, 'Floradur' and 'Helidur'. About 130 BC₁F₄-derived lines per population were evaluated for FHB response using artificial spray inoculation in four field experiments during two seasons. Lines were genetically fingerprinted using SSR and AFLP markers. Map construction was done with CarthaGene 1.2-LKH for Linux (DE GIVRY et al. 2005). For this the marker data of all three populations

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

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

Keywords

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

Acknowledgments

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

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

References

- BUERSTMAYR H, BAN T, ANDERSON JA, 2009: QTL mapping and marker-assisted selection for Fusarium head blight resistance in wheat: a review. *Plant Breed* 128, 1-26.
- BUERSTMAYR M, HUBER K, HECKMANN J, STEINER B, NELSON JC, BUERSTMAYR H, 2012: Mapping of QTL for Fusarium head

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

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

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

- blight resistance and morphological and developmental traits in three backcross populations derived from *Triticum dicoccum* × *Triticum durum*. *Theor Appl Genet* 125, 1751-1765.
- BUERSTMAYER H, STIERSCHNEIDER M, STEINER B, LEMMENS M, GRIESSER M, NEVO E, FAHIMA T, 2003: Variation for resistance to head blight caused by *Fusarium graminearum* in wild emmer (*Triticum dicoccoides*) originating from Israel. *Euphytica* 130, 17-23.
- CLARKE J, THOMAS J, FEDAK G, SOMERS D, GILBERT J, POZNIAK C, FERNANDEZ M, COMEAU A, 2004: Progress in improvement of Fusarium resistance of durum wheat. In: CANTY SM, BORING T, WARDWELL J, WARD RW (eds), *Proc 2nd Int Symp on Fusarium Head Blight*, 11-15 Dec, Orlando, p 43. Michigan State University, East Lansing.
- DE GIVRY S, BOUCHEZ M, CHABRIER P, MILAN D, SCHIEX T, 2005: CARTHAGENE: multipopulation integrated genetic and radiated hybrid mapping. *Bioinformatics* 21, 1703-1704.
- ELIAS EM, MANTHEY FA, STACK RW, KIANIAN SF, 2005: Breeding efforts to develop Fusarium head blight resistant durum wheat in North Dakota. In: CANTY SM, BORING T, WARDWELL J, SILER L, WARD RW (eds), *Proc 2005 National Fusarium Head Blight Forum*, 11-13 Dec, Milwaukee, pp 25-26. Michigan State University, East Lansing.
- HUHN M, ELIAS E, GHAVAMI F, KIANIAN S, CHAO S, ZHONG S, ALAMRI M, YAHYAOU A, MERGOUM M, 2012: Tetraploid Tunisian wheat germplasm as a new source of Fusarium head blight resistance. *Crop Sci* 52, 136-145.
- KISHII M, BANT T, AMMAR K, 2005: Improvement of FHB resistance of durum wheat. In: CANTY SM, BORING T, WARDWELL J, SILER L, WARD RW (eds), *Proc 2005 National Fusarium Head Blight Forum*, 11-13 Dec, Milwaukee, p 52. Michigan State University, East Lansing.
- MILLER JD, STACK RW, JOPPA LR, 1998: Evaluation of *Triticum turgidum* L. var. *dicoccoides* for resistance to Fusarium head blight and stem rust. In: SLINKARD AE (ed), *Proc 9th Int Wheat Genet Symp*, 2-7 Aug, Saskatoon, pp 292-293. Univ Saskatchewan Ext Press, Saskatoon.
- OLIVER R, STACK R, MILLER J, CAI X, 2007: Reaction of wild emmer wheat accessions to Fusarium head blight. *Crop Sci* 47, 893-899.
- OLIVER RE, CAI X, FRIESEN TL, HALLEY S, STACK RW, XU SS, 2008: Evaluation of Fusarium head blight resistance in tetraploid wheat (*Triticum turgidum* L.). *Crop Sci* 48, 213-222.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2011: R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna.

Kombinierte Krankheitsresistenzen bei Weizen durch quantitative Breitspektrumsresistenz

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

Thomas Miedaner^{1*} und Peter Risser^{1,2}

Abstract

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

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

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

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

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

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

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

¹ Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART

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

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

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

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

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

Methodische Voraussetzungen

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

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

Ergebnisse und Diskussion

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

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

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

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

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

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

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

A. Arina x Forno (Chr. 4B)

B. History x Rubens (Chr. 7B)

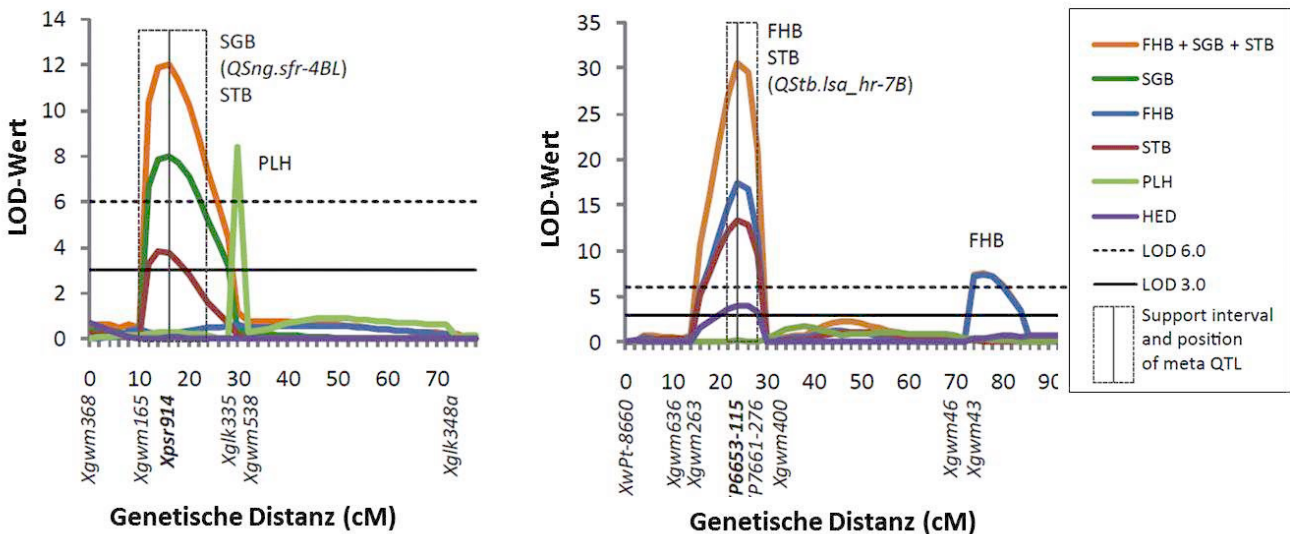


Abbildung 1. Zwei Beispiele für BSR QTL aus (A) Arina×Forno bzw. (B) History×Rubens für Resistenz gegen Ährenfusariosen (FHB), Blattseptoria (STB) bzw. Spelzenbräune (SGB); PLH, Wuchshöhe; HED, Datum des Ährenschiebens

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

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

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

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

Züchterische Konsequenzen

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

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

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

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

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

¹ Daten von HOLZAPFEL et al. (2008)

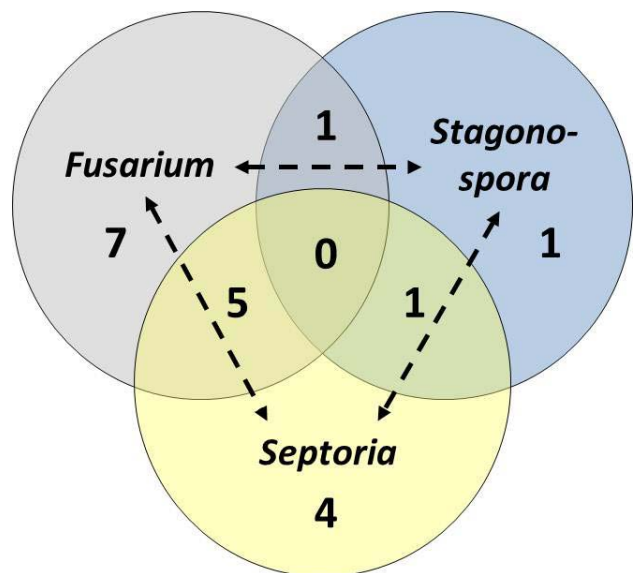


Abbildung 2. Anzahl der QTL, die für die drei Krankheitsresistenzen alleine bzw. überlappend zwischen je zwei Resistenzen gefunden wurden

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

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

Danksagung

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

Literatur

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

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

Auswirkungen geänderter Pflanzenschutzrahmenbedingungen auf die Pflanzenzüchtung

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

Gottfried Besenhofer^{1*}

Abstract

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

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

Vergleichende Bewertung

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

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

Ausschlusskriterien

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

¹ AGES, Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit, Institut für Pflanzenschutzmittel, Spargelfeldstraße 191, 1220 WIEN

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

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

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

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

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

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

Schlussfolgerungen

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

Literatur

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

Use of beneficial microorganisms for crop improvement

Friederike Trognitz^{1*}, Birgit Mitter¹, Naveed Muhammad¹, Günter Brader¹ and Angela Sessitsch¹

Abstract

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

Keywords

Biocontrol, endophytes, plant growth promotion

Introduction

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

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

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

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

Beneficial microorganisms for plant growth promotion

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

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

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

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

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

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

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

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

Beneficial microorganism as biocontrol agents

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

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

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

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

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

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

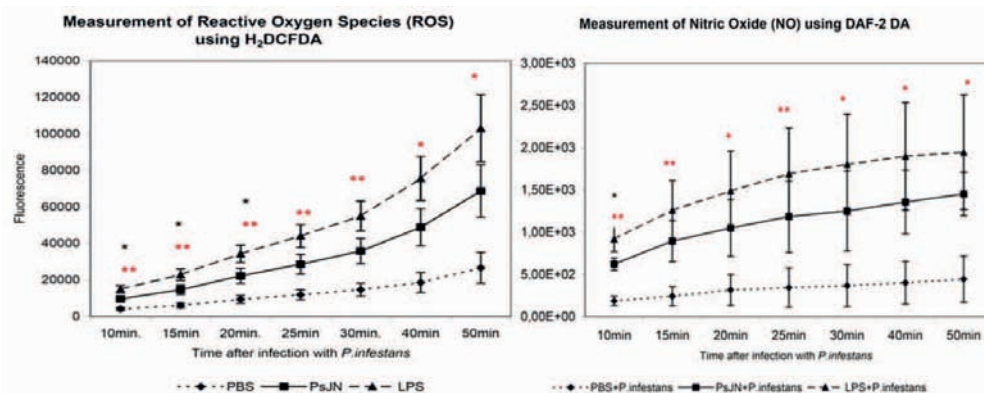


Figure 1: Production of ROS and NO during the interaction with *Phytophthora infestans* in leaves primed with PsJN, LPS or PBS. ROS and NO were rapidly increased after challenging with the pathogen *P. infestans* in the primed leaves with PsJN and LPS compared to the control leaves (PBS). The increase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

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

Microorganisms as bio-herbicides

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

References

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

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

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

Benno Voit¹*, Georg Salzeder¹ und Berta Killermann¹

Abstract

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

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

Keywords

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

Einführung

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

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

Material und Methoden

Keimfähigkeit

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

Triebkraft

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

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

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

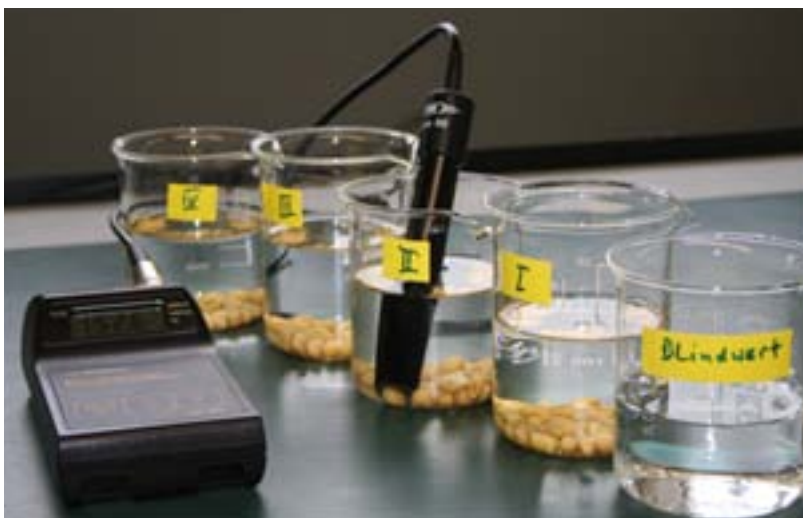
* Ansprechpartner: Benno VOIT, Benno.Voit@LfL.bayern.de

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

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

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

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

**Abbildung 1: Bestimmung der Leitfähigkeit nach ISTA. Eingeweichte Samen (4x50) und der Blindwert****Figure 1: Electrical conductivity test according to ISTA. Soaked seeds (4 replicates with 50 seeds) and control variant**

Feldversuche

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

Beim zweiten Standort Rotthalmünster handelt es sich um eine Gunstlage im Rottal bei 8°C durchschnittlicher Jahrestemperatur und 850 mm Niederschlag. Ausgesät wurden 70 Körner pro m² bei einer Parzellengröße von 10 m² und jeweils 4 Wiederholungen. Für die Ertragsermittlung wurde die gesamte Parzelle geerntet und gewogen.

Ergebnisse und Diskussion

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

Tabelle 2: Keimfähigkeit, Triebkraft, Feldaufgang und Ertrag von 2 Sojabohnensorten mit jeweils 3 unterschiedlichen Saatgutqualitäten auf den Standorten Oberhummel und Rotthalmünster, 2011**Table 2: Germination, seed vigour, field emergence and yield of 2 soybean varieties with 3 different seed quality levels at the sites Oberhummel and Rotthalmünster in 2011**

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

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

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

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

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

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

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

Zusammenfassung

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

Literatur

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

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

EU-Verordnung für Vermehrungsgut - Stand der Diskussion

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

Heinz-Peter Zach^{1*}

Abstract

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

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

Voraussichtliche Änderungen im Geltungsbereich

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

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

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

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

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

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

Saatgutkategorien

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

Sortenregistrierung

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

Organisation der Qualität

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

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

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

Vorübergehende Gemeinschaftsexperimente zur Harmonisierung von Gemeinschaftsnormen sollen wieder möglich

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

Außenhandel

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

Verschärfungen (Zusammenfassung I)

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

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

Mögliche Liberalisierungen (Zusammenfassung II)

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

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

Unklarheiten (Zusammenfassung III)

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

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

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

Schlussfolgerungen

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

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

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

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

Bernd Hackauf^{1*}, Maria T. Goldfisch¹, Dörthe Musmann¹, Gilbert Melz² and Peter Wehling¹

Abstract

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

We have investigated *Ddw1*, which was previously mapped in a 17.1 cM interval on the long arm of chromosome 5R (KORZUN et al. 1996), in a comparative genetic approach using genome data of related grass species as a blueprint for marker development (HACKAUF and WEHLING 2005, HACKAUF et al. 2009, 2012). Intron-spanning primers were derived from rye ESTs (HASENEYER et al. 2011). An integrated map covering 27.6 cM on rye chromosome 5R was established based on 768 F_{4,5} individuals segregating for *Ddw1*, which originated from the cross R1620 (tall)×R347/1 (dwarf).

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

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

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

² Dieckmann GmbH & Co. KG, Kirchhorster Straße 16, D-31688 NIENSTÄDT

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

Keywords

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

Acknowledgments

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

References

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

Sortenprüfung der Anfälligkeit gegenüber Streifenkrankheit der Gerste und Weizensteinbrand

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

Manfred Weinhappel^{1*}, Michael Oberforster², Clemens Flamm² und Martin Plank²

Abstract

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

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Material und Methoden

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

Die Versuche wurden in vierfacher Wiederholung angelegt mit Parzellengrößen zwischen 10 und 13 m². Der Versuchsplan (Abbildung 1) beinhaltet für jede Sortengruppe eine „Gesund-Variante“ der Sorte und links und rechts davon „Infektionsmäntel“ (Sortengemisch anfälliger Sorten) um die Erntegutinfektion ableiten zu können sowie eine „Infiziert-Variante“ der Sorte, um die Krankheitsentwicklung, ausgehend von infiziertem Saatgut, verfolgen zu können. Wesentliche erfasste Parameter waren unter anderem: (i) Befallserhebung des Ausgangssaatgutes mit Streifenkrankheit, (ii) Befallserhebung des Feldbestandes mit Streifenkrankheit, (iii) Gesundvarianten: Auszählung aller infizierten Pflanzen im Bestand, (iv) Infiziert-Varianten: Auszählung aller erkrankten und gesunden Pflanzen auf 1 m²,

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

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

Die Prüfungen zur Steinbrandanfälligkeit erfolgen für alle zur Biwertprüfung angemeldeten Kandidaten ab dem 2. Prüfljahr. Die Versuche werden in Großnondorf (Pannonikum) und Grabenegg (Baltikum) durchgeführt. Beim Zulassungsentscheid liegen für jede Kandidatensorte zumindest vier Ergebnisse vor. Die künstliche Inokulation der Saatgutproben erfolgt mit österreichischen Sporenerkennungen in einer Dosierung von 3 g Sporen·kg⁻¹ Saatgut; dies entspricht einer Kontamination von etwa 30000 Sporen·Korn⁻¹. Die Parzellengröße beträgt 1,2 m² in dreifacher Wiederholung. Es werden sämtliche Pflanzen der Parzelle entnommen und die Anzahl erkrankter und gesunder Ähren ermittelt.

Ergebnisse und Diskussion

Streifenkrankheit der Gerste

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

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

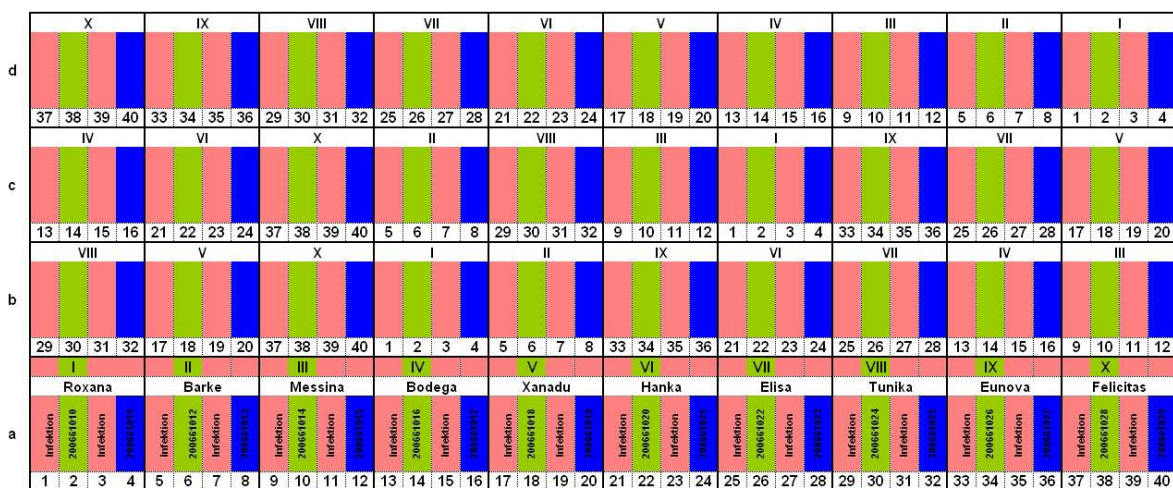


Abbildung 1: Anbauplan Sommergerste Streifenkrankheitsversuche 2005-2007 Aspersdorf/Hollabrunn und Schönfeld (rot: Infektionsmäntel; grün: Gesundvariante der jeweiligen Sorte; blau: Infiziert-Variante der jeweiligen Sorte)

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

für Problemstellungen und Bewertungsfragen im Rahmen der Saatgut-zertifizierung.

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

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

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

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

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

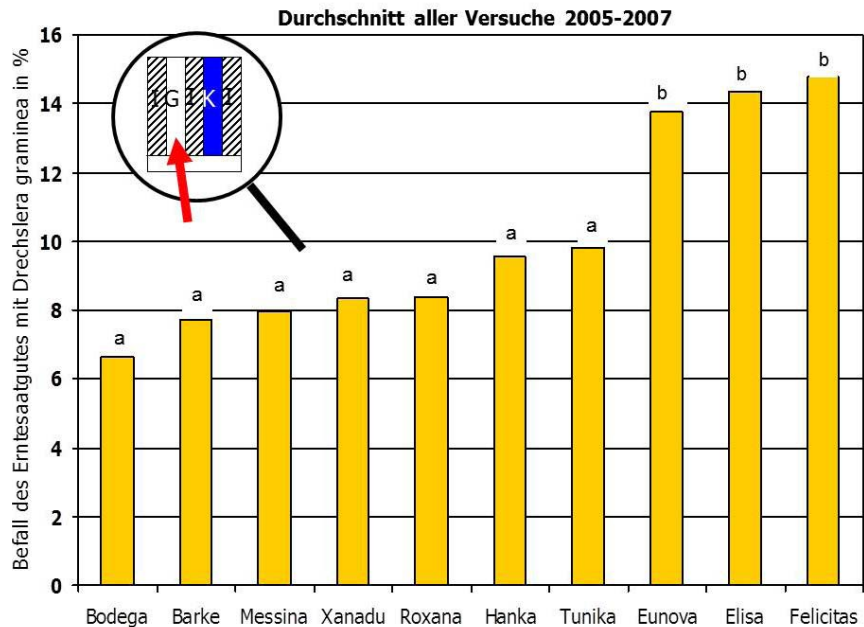


Abbildung 2: Befall des Erntegutes mit Streifenkrankheit der Gerste hervorgerufen durch hoch infizierte benachbarte Parzellen

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

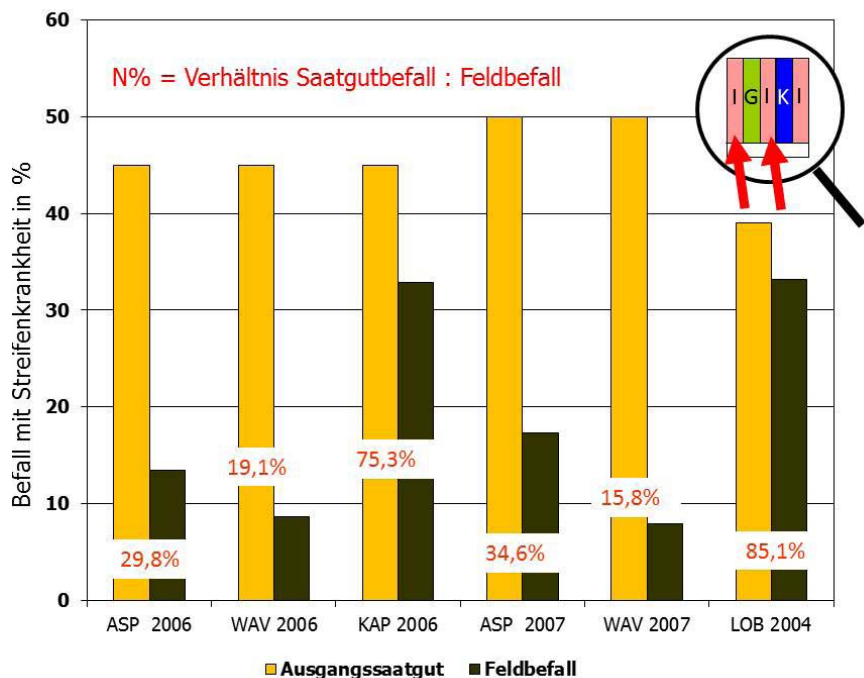


Abbildung 3: Durchschnittliche Infektion des Feldbestandes mit Streifenkrankheit der Infektionsmäntel in Abhängigkeit von Standort und Jahr

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

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

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

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

Gewöhnlicher Steinbrand

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

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

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

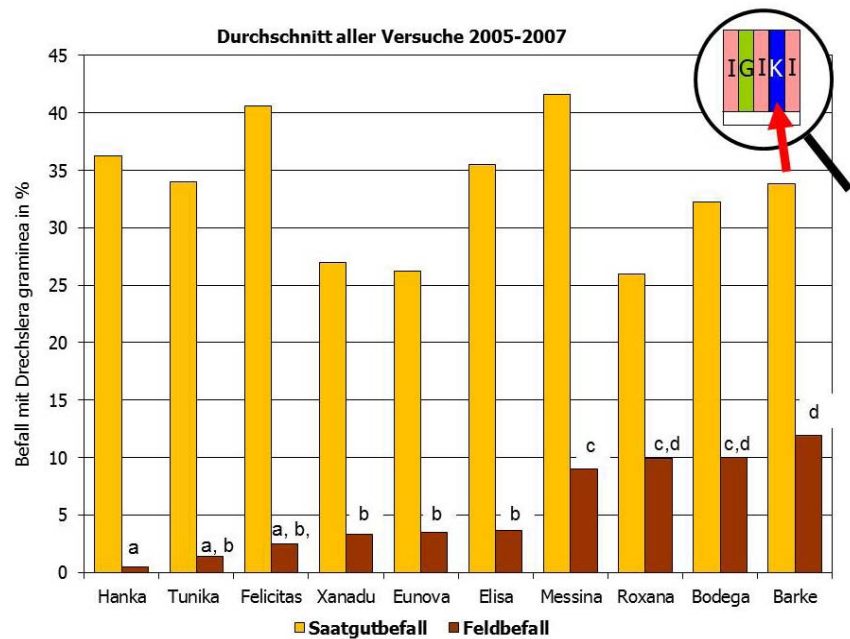


Abbildung 4: Ausgangssaatzutbefall und daraus resultierender Anteil an mit Streifenkrankheit infizierten Pflanzen

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

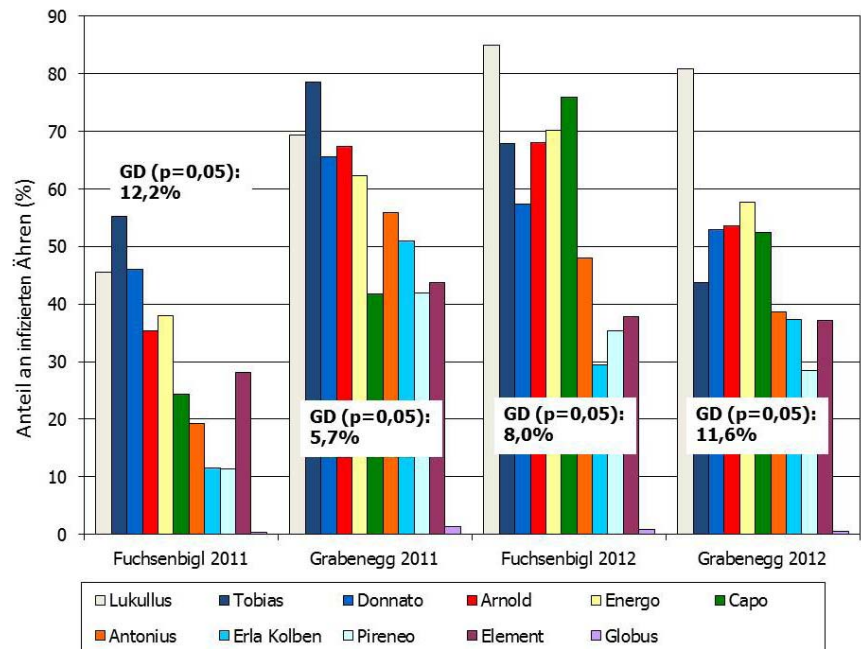


Abbildung 5: Prozentueller Befall der Ähren von Winterweizensorten mit Gewöhnlichem Steinbrand (Versuche mit Inokulation des Saatgutes 2011-2012, 11 Sorten)

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

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

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

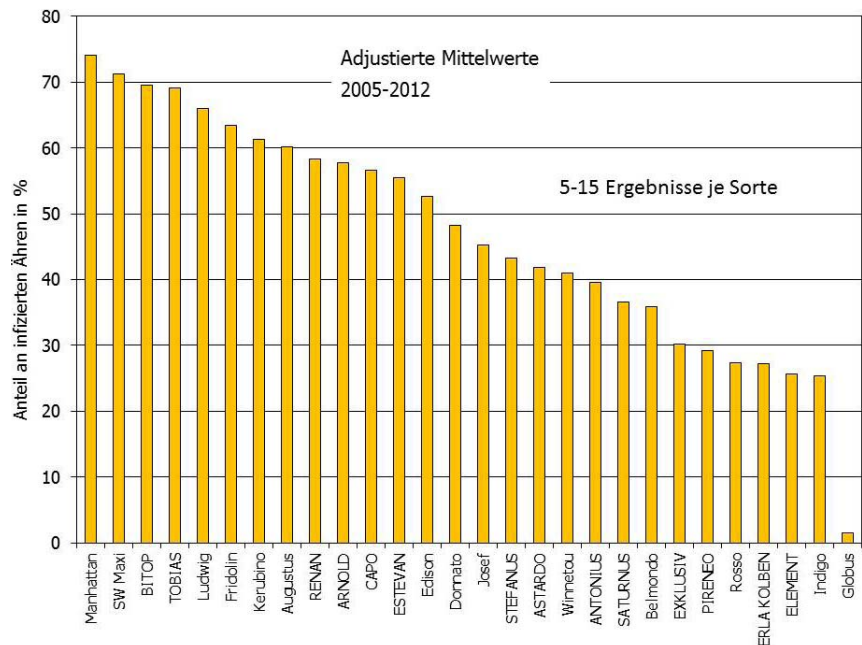


Abbildung 6: Prozentueller Befall der Ähren von Winterweizensorten mit gewöhnlichem Steinbrand (Versuche mit Inokulation des Saatgutes 2005-2012, adjustierte Mittelwerte, 28 Sorten)

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

Schlussfolgerungen

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

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

Danksagung

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

Literatur

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

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

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

Association mapping for common bunt resistance in wheat

Philipp Steffan¹, Anders Borgen², Søren K. Rasmussen^{1*}, Jihad Orabi¹ and Gunter Backes¹

Abstract

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

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

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

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

Keywords

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

Acknowledgments

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

References

GOATES GJ, 1996: Common bunt and dwarf bunt. In: WILCOXSON RD, SAARI E (Eds.), Bunt and smut disease of wheat: Concepts and methods of disease management, 12-25. CIMMYT, Mexico, DF.

JACCOUD D, PENG K, FEINSTEIN D, KILIAN A, 2001: Diversity Arrays: a solid state technology for sequence information independent genotyping. Nucleic Acid Res 29, e25. DOI: 10.1093/nar/29.4.e25

¹ University of Copenhagen, Molecular Plant Breeding Group, Bülowsvej 17, 1870 FREDERIKSBERG C, Denmark

² Agrologica, Houvej 55, 9550 MARIAGER, Denmark

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

Wheat screening for resistance to common bunt and dwarf bunt

Veronika Dumalasová^{1*} and Pavel Bartoš¹

Abstract

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

Keywords

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

Introduction

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

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

Material und Methods

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

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

Results and Discussion

Common bunt

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

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

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

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

¹ Crop Research Institute, Drnovská 507, CZ-16106 PRAHA-RUZYŇ, Czech Republic

* Corresponding author: Veronika DUMALASOVÁ, dumalasova@vurv.cz

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Dwarf bunt

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

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

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

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

Conclusions

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

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

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

Acknowledgement

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

References

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

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

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

Robert Bauer^{1*}, Benno Voit¹, Berta Killermann¹ und Kurt-Jürgen Hülsbergen²

Abstract

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

Material und Methoden

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

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

Ergebnisse und Diskussion

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

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

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

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

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

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

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

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

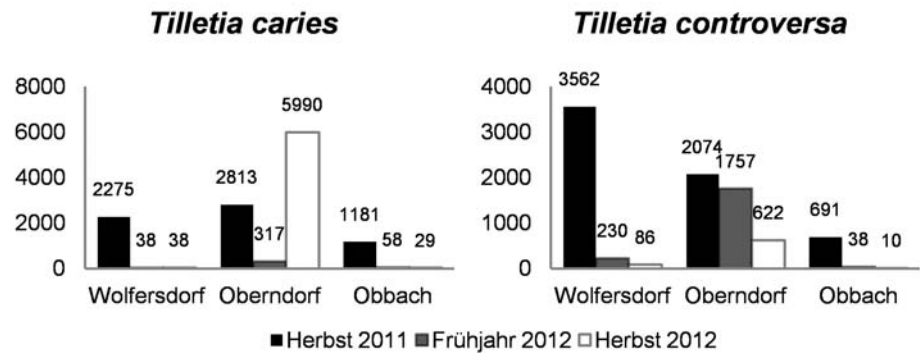


Abbildung 1: Veränderung des Steinbrand- und Zwergsteinbrand-Sporenpotenzials im Stallmist der drei Herkunftsorte Wolfersdorf, Oberndorf und Obbach während der Lagerung im Zeitraum Herbst 2011 bis Herbst 2012

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

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

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

Danksagung

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

Literatur

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

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

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

Michael Oberforster^{1*}

Abstract

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

Keywords

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

Einleitung

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

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

Material und Methoden

Auswinterung

Bei Wintergerste werden Daten der Versuche Großnondorf (Gro, Bez. Hollabrunn), Reichersberg (Rei, Bez. Ried im Innkreis) und Bad Wimsbach-Neydharting (Wim1, Wim2, Bez. Wels-Land) mitgeteilt. Bei Winterweizen (Feuchtlagensortiment) sind es die Standorte Reichersberg (Rei1), Freistadt (Fre, Bez. Freistadt) und Schönfeld (Sch1, Bez. Zwettl). Die einfaktoriellen Versuche waren als Gitteranlagen mit drei- bis vierfacher Wiederholung der Prüfglieder und Parzellen von 8,1 bis 12,0 m² konzipiert. Einbezogen wurden auch Weizenregister mit zwei Wiederholungen und Parzellen von 3,8 bis 5,0 m². Es handelt sich um die Versuche Grabenegg (Gra, Bez. Melk), Reichersberg (Rei2) und Schönfeld (Sch2). Die Beurteilung der Symptome erfolgte gemäß den Richtlinien für die Sortenprüfung (BFL 2002). Dabei bedeutet die Note 1 keine Auswinterungsschäden, die Note 5 mittlere Schäden und die Note 9 sehr starke Schäden. Zumeist erfolgte die Bonitur an zwei bis vier Terminen (Wintergerste: 3. März bis 3. April; Winterweizen: 3. März bis 19. April); verrechnet wurden die Mittelwerte. Die zeitlich späteren Erhebungen zeigen das Ausmaß der Erfrierungen mitunter präziser an bzw. schließen die Fähigkeit der Pflanzen zur Regeneration mit ein.

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

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

Trockenstress

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

Spätfrost, Zwiewuchs

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

Ergebnisse und Diskussion

Auswinterung

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

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

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

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

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

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

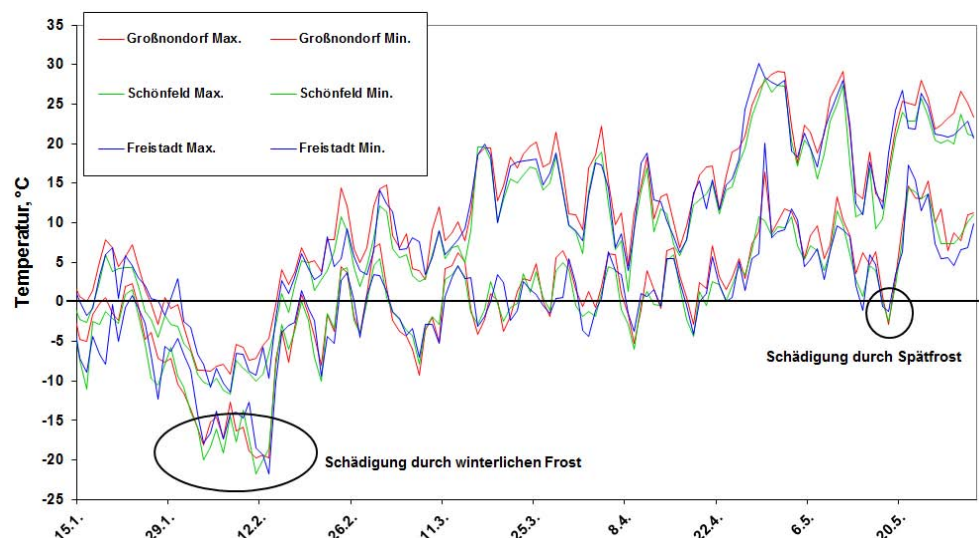


Abbildung 1: Tagestemperatur (°C, Maximal- und Minimalwert) an drei Standorten von 1. Jänner bis 30. Mai 2012

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Trockenheit

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Quelle: ZAMG, LFS Mistelbach

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

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

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

¹ Abkürzungen siehe *Tabelle 2*

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

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

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

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

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

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

¹ Abkürzungen siehe *Tabelle 2*

Viröse Weizenverzweigung

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

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

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

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

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

¹ Sorten: Capo, Estevan, Philipp, Saturnus

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

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

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

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

Spätfrost

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

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

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

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

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

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

Gegensatz zu Wintergerste wurden bei Weizen vollkommen sterile Ähren nur selten beobachtet.

Die Züchtung auf Toleranz gegenüber Spätfrost ist ein schwieriges Unterfangen. Bereits kleine Unterschiede in der Entwicklung der Genotypen können zu fehlerhaften Interpretationen der Ergebnisse führen (FREDERIKS et al. 2012). Sorten mit früher Halmstreckung und frühem Ährenschieben sind tendenziell mehr gefährdet als Sorten mit langsamer Entwicklung. In den Prüfungen festgestellte Differenzen in der Empfindlichkeit basieren oftmals auf Unterschieden im Wachstumsstadium. Für die Getreidezüchter Mitteleuropas ist die Toleranz gegenüber Spätfrost derzeit kein Selektionskriterium. Jedoch könnten Spätfrost aufgrund des Klimawandels, des im Frühjahr zeitiger einsetzenden Wachstums und einer Tendenz zur genetischen Verfrühung von Weizensorten für Trockengebiete künftig mehr Probleme bereiten.

Zwiewuchs

Bei Getreide ist die Anlage von Bestockungstrieben genetisch reguliert und wird von den Umweltbedingungen beeinflusst (DUGGAN et al. 2005). Mit dem Eintritt in das Schosstadium endet normalerweise die Bestockung und beginnt die Rückbildung überzähliger Triebe. Die



Abbildung 2: Spätfrostschaden (2 Ähren links) und durch Trockenstress verursachte Ährenspitzensterilität (2 Ähren rechts) bei Winterweizen

Figure 2: Spring freeze injury (2 spikes on the left) and drought stress-induced spike tip sterility (2 spikes on the right) on winter wheat

grundsätzliche Fähigkeit zur Anlage von Seitenachsen geht jedoch nicht verloren. Nach früher Lagerung, durch Spätfrost verursachter Taubährigkeit, Trockenperioden, Hagelschlag oder Virusinfektionen im Frühjahr ist bei ausreichendem Wasserangebot ein Austrieb von am Halmgrund befindlichen Knospen möglich. Das Ergebnis ist ein nicht erntefähiges Gemenge von bereits weitgehend reifen und grünen Ähren oder Rispen.

Im Jahr 2012 waren viele Getreidebestände stark zwiewüchsig. In Ostösterreich und im Alpenvorland betraf es zuerst die im Februar ausgedünnten Wintergersten. Bei den durch Spätfrost partiell sterilen Ähren war die unterdrückende Wirkung der Haupthalme auf die Knospen (Apikaldominanz) reduziert, was zur Bildung neuer Nebentriebe führte. Der Zusammenhang von durch Spätfrost verursachter Schartigkeit und Zwiewuchs wird anhand von Boniturdaten deutlich (Abbildung 3). Einen ähnlichen Effekt übte die fehlende Assimilatsenke bei Weizenpflanzen mit durch WDV-Frühjahrsinfektionen abgestorbenen Ähren aus. Regenfälle im Juni führten insbesondere im östlichen Waldviertel sowie im Weinviertel verbreitet zu Zwiewuchs. Betroffen waren vor allem dünne und kurzhalmige Bestände von Winterweizen, Winterdurum, Dinkel, Sommergerste und Sommerdurum. Ähren von zwiewüchsigen Halmen liefern zumeist mangelhaft ausgebildete Körner. Wird mit der Ernte ein bis zwei Wochen zugewartet, kann dies beim bereits totreifen Erstbestand Ährenverluste oder Kornausfall verursachen. Wechselhafte Witterung in dieser Zeit schädigt zusätzlich durch Auswuchs und abgesenkte Fallzahlen.

In Vergleichsprüfungen zeigten die Sortimente eine differenzierte Neigung zu Zwiewuchs. Allerdings ist das Merkmal nicht unmittelbar züchterisch relevant. Vielmehr geht es darum, durch entsprechende Winterhärte, Trockenheitstoleranz und Standfestigkeit sowie durch richtig gesetzte pflanzenbauliche Maßnahmen Zwiewuchs zu vermeiden.

Zusammenfassung

In dieser Studie werden die Themen Auswinterung, Trockenheit, viröse Weizenverzweigung, Spätfrost und Zwiewuchs bei Wintergerste und Winterweizen behandelt. Die Ausführungen basieren auf Ergebnissen von Exaktversuchen und Beobachtungen aus der landwirtschaftlichen Praxis.

Die Gründe für das Auswintern können sehr verschieden sein. Werden die Schäden den wesentlichsten Ursachen (niedrige Temperaturen, Befall mit Schneeschimmel, Typhulafäule) möglichst präzise zugeordnet, sind die G×U-Wechselwirkungen deutlich vermindert. Im Jahr 2012 waren die in der ersten Februarhälfte einwirkenden Fröste von -15 bis -22°C ausschlaggebend. Der in Sortenwertprüfungen festgestellte Schädigungsgrad ließ sich über die Umwelten zumeist gut reproduzieren (Wintergerste: $r=0,64^{**}$ bis $0,90^{**}$; Winterweizen: $r=0,32$ n.s. bis $0,90^{**}$). Von Oktober 2011 bis Mai 2012 erhielten Teile der pannonischen Region nur 130 bis 180 mm Niederschlag. Im Weizensortiment wurden die Trockenstress-Symptome Blattrollen und Ährenspitzensterilität untersucht. Ergebnisse aus 2011 und 2012 zeigten eine Wiederholbarkeit von $r=0,47^*$ bis $0,72^{**}$ (Blattrollen) bzw. $r=0,70^{**}$ bis $0,88^{**}$ (Ährenspitzensterilität). Beide Parameter eignen sich jedoch nur sehr

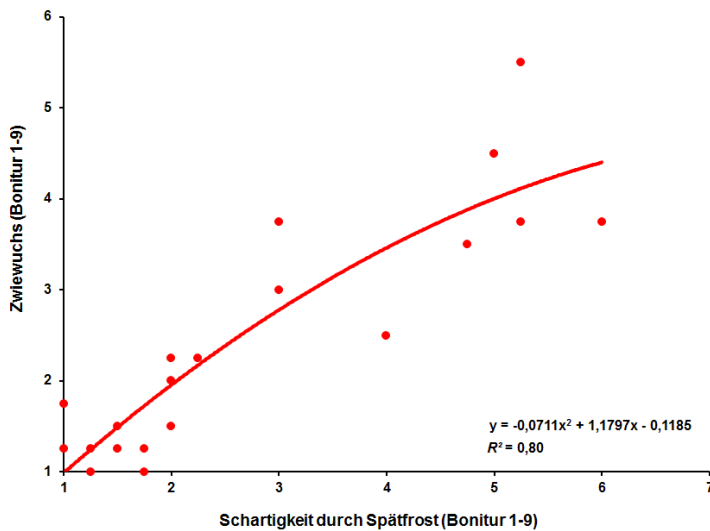


Abbildung 3: Intervarietaler Zusammenhang von durch Spätfrost verursachter Schartigkeit und Zwiewuchs (Bonitur 1-9) (Versuch Atzenbrugg 2012, 20 Sorten)

Figure 3: Intervarietal relationship of partial seed set caused by late spring frost and secondary tillering (scale of 1-9) (Trial at Atzenbrugg in 2012, 20 cultivars)

eingeschränkt zur Beurteilung der Trockentoleranz von Genotypen. Im Nordosten des Landes trat bei Winterweizen oftmals viröse Weizenverzweigung (WDV) auf. Die Pflanzen dürften in erster Linie im Frühjahr und in geringerem Maße im Herbst infiziert worden sein. Im nordöstlichen Flach- und Hügelland, im östlichen Alpenvorland und Waldviertel sank in der Nacht vom 17. auf den 18. Mai die Temperatur auf +3 bis -6°C ab. Der Spätfrost führte bei Getreide (insbesondere Wintergerste, Winterweizen und Roggen) mitunter zu partieller oder gänzlicher Taubährigkeit. Im Juni und Juli präsentierte sich das Getreide gebietsweise stark zwiewüchsig. Betroffen waren vor allem Bestände, welche unter Auswinterung, Trockenheit, Spätfrost oder viröser Weizenverzweigung gelitten hatten.

Literatur

- BFL, 2002: Methoden für Saatgut und Sorten. Richtlinien für die Sortenprüfung. Sorten- und Saatgutblatt, Schriftenreihe 59/2002. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.
- BLUM A, 1989: Breeding methods for drought resistance. In: JONES HG, FLOWERS TJ, JONES MB (Eds.), *Plants under stress*, 197-215. Cambridge Univ Press, Cambridge.
- BLUMA, 2011: *Plant breeding for water-limited environments*. Springer, New York.
- DUGGAN BL, RICHARDS RA, VAN HERWAARDEN AF, FETTELL NA, 2005: Agronomic evaluation of a tiller inhibition gene (*tin*) in wheat. I. Effect on yield, yield components, and grain protein. *Aust J Agric Res* 56, 169-178.
- FLAMM C, SCHERIAU S, ZECHNER E, LIVAJA M, PAUK J, 2013: Praktische Anwendbarkeit von Trockenstressparametern für die Weizenzüchtung. Bericht 63. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2012, 87-93. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irndning.

FOWLER DB, 1979: Selection for winterhardness in wheat. II. Variation within field trials. *Crop Sci* 19, 773-775.

FOWLER DB, GUSTA LV, 1979: Selection for winterhardness in wheat. I. Identification of genotypic variability. *Crop Sci* 19, 769-772.

FREDETIKS TM, CHRISTOPHER JT, HARVEY GL, SUTHERLAND MW, BORRELLAK, 2012: Current and emerging screening methods to identify post-head-emergence frost adaptation in wheat and barley. *J Exp Bot* 63, 15, 5405-5416.

HABEKUSS A, RIEDEL C, SCHLIEPHAKE E, ORDON F, 2009: Breeding for resistance to insect-transmitted viruses in barley - an emerging challenge due to global warming. *J Kulturpflanzen* 61, 53-61.

JONES HG, 1979: Visual estimation of plant water status in cereals. *J Agric Sci* 92, 83-89.

LEIPNER J, GIRAUD A, STAMP P, KELLER B, PLASSÉ C, 2010: Phänotypische und genetische Analyse der Frosttoleranz genetischer Ressourcen von Weizen unter Feldbedingungen. Bericht 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2009, 25-29. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irndning.

MEHNER S, MANURUNG B, GRÜNTZIG M, HABEKUSS A, WITSACK W, FUCHS E, 2003: Investigations into the ecology of the *Wheat dwarf virus* (WDV) in Saxony-Anhalt, Germany. *J Plant Dis Prot* 110, 313-323.

NEURURER H, 1957: Spätfroste als Ursache partieller und totaler Weißährigkeit des Getreides. *Der Pflanzenarzt* 10, 92.

OBERFORSTER M, FLAMM C, 2007: Reaktion eines Weizensortiments auf induzierten Trockenstress. *Vortr Pflanzenzüchtg* 72, 199-202.

ORDON F, 2008: Pflanzenzüchterische Möglichkeiten der Anpassung von Nutzpflanzen an zukünftige Produktionsbedingungen. In: VON TIEDEMANN A, HEITEFUSS R, FELDMANN F (Eds.), *Pflanzenproduktion im Wandel - Wandel im Pflanzenschutz*, 90-102. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Braunschweig.

PALEG LG, ASPINALL D, 1981: *The physiology and biochemistry of drought resistance in plants*. Academic Press Australia, Sydney.

PAUK J, CSEUSZ L, LANTOS C, MIHÁLY R, SZÉNÁSI M, FEHÉRNÉ JE, LELLEY T, MAJER P, SASS L, HORVÁTH GV, VASS I, DUDITS D, 2010: Drought stress and the response of wheat: nursery and complex stress diagnostic experiments. Bericht 60. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2009, 15-18. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irndning.

RADEMACHER B, 1950: Über das Bild der Spätfrostschäden an Ährengetreide und Mais. *Z Pflanzenkrkh Pflanzensch* 57, 401-408.

RICHARDS RA, CONDON AG, REBETZKE GJ, 2001: Traits to improve yield in dry environments. In: REYNOLDS MP, ORTIZ-MONASTERIO JI, MCNAB A (Eds.), *Application of physiology in wheat breeding*, 88-100. CIMMYT, Mexico.

STATISTIK AUSTRIA, 2012: *Feldfruchternte 2012. Endgültige Ergebnisse*. Schnellbericht 1.12. Bundesanstalt Statistik Österreich, Wien.

VACKE J, 1961: *Wheat dwarf virus* disease. *Biol Plant* 3, 228-233.

VACKE J, CIBULKA R, 2000: Response of selected winter wheat varieties to *Wheat dwarf virus* infection at an early growth stage. *Czech J Genet Plant Breed* 36, 1-4.

VAN GINKEL M, CALHOUN DS, GEBEYEHU G, MIRANDAA, TIANYOU C, PARGAS LARA R, TRETOWAN RM, SAYRE K, CROSA J, RAJARAM S, 1998: Plant traits related to yield of wheat in early, late or continuous drought conditions. *Euphytica* 100, 109-121.

WARRICK BE, MILLER TD, 1999: Freeze injury on wheat. Texas Agricultural Extension Service, The Texas A&M University System, SCS-1999-15.

Untersuchungen der Reaktionen verschiedener Gerstegenotypen auf zukünftige CO₂-Konzentrationen als Grundlage zur züchterischen Optimierung des „CO₂-Düngeeffektes“

Analyses of the responses of different barley genotypes to future CO₂ concentrations in order to optimise the CO₂ fertilisation effect through plant breeding

Esther Mitterbauer^{1*}, Frank Ordon², Antje Habekuß², Martin Erbs¹, Matthias Enders²,
Benjamin Kilian³, Hans-Joachim Weigel¹, Anette Giesemann⁴ und Jürgen Bender¹

Abstract

Atmospheric CO₂ concentration has risen all over the globe from pre-industrial times until today and is predicted to increase even more rapidly in future. Higher CO₂ concentration stimulates photosynthesis and can increase biomass and yield in C3 crops (CO₂ fertilization effect).

To get information about the genetic variability in winter barley (*Hordeum vulgare* L.) on CO₂ responses, 100 of about 630 genotypes analysed with the Illumina 9k iSelect chip were grown in open-top chambers at different CO₂ levels. Plants were phenotyped for growth parameters, yield (seed weight per plant) and yield components (seed number per ear, number of ears per plant, and the thousand-kernel weight) as well as for physiological (carbon isotope discrimination) and morphological (leaf structure) traits.

The genotypes differed significantly for thousand-kernel weight and number of ears per plant within the groups. The two-rowed genotypes varied in their seed number per ear, but this was not found in the six-rowed genotypes. Elevated CO₂ enhanced yield (+28%), number of seeds per ear (+12%), and number of ears per plant (+15%) in six-rowed genotypes. Elevated CO₂ increased the thousand-kernel weight (+4 %) and number of seeds per ear (+11%) in two-rowed genotypes, but not the yield and the number of ears per plant.

First association analyses were carried out by using the relative phenotypic data (elevated CO₂ vs. ambient CO₂) and markers have been identified that are most likely associated with particular yield traits.

Keywords

Hordeum vulgare, winter barley, elevated CO₂, genetic variability, yield, association analysis

Einleitung

Die über die letzten Jahrtausende relativ konstante atmosphärische CO₂-Konzentration von etwa 280 ppm ist durch anthropogene Einflüsse seit Beginn des industriellen Zeitalters bereits auf heutzutage 390 ppm angestiegen. Verschiedene Klimawandel-Projektionen gehen einhellig von einer weiteren Steigerung der CO₂-Konzentration für die Zukunft aus, die sich aller Voraussicht nach sogar noch beschleunigen wird. Lag die Zunahme der CO₂-Konzentration zwischen 1970 und 1999 noch bei 1,3-1,5 ppm pro Jahr, erhöhte sie sich im Jahr 2007 bereits auf 2,2 ppm. Die Projektionen sagen atmosphärische CO₂-Konzentrationen zwischen 460 und 620 ppm bereits im Jahr 2050 voraus (MEEHL et al. 2007).

Während CO₂ als wichtigstes Treibhausgas nach Wasserdampf starken Einfluss auf die Änderungen des Klimas nimmt, ist es gleichzeitig ein essentielles Substrat für die Biomasseerzeugung durch Pflanzen. Höhere CO₂-Konzentrationen stimulieren grundsätzlich unter ansonsten gleichen Bedingungen die Photosynthese bei C3-Pflanzen bei gleichzeitig reduzierter Blatttranspiration und einem damit einhergehenden geringeren Wasserverbrauch. Daher spricht man von einem CO₂-Düngeeffekt.

In verschiedenen Untersuchungen ist jedoch festgestellt worden, dass sich der potentielle Effekt von erhöhtem CO₂ (e[CO₂]) auf die Photosynthese weder in der aktuellen Photosynthese noch in entsprechenden Ertrags- bzw. Biomassezuwächsen wiederfindet (LONG et al. 2006).

Dass Kulturpflanzenarten und Sorten eine erhebliche Variationsbreite in der - in der Regel positiven - Wachstumsreaktion auf erhöhte CO₂-Konzentrationen aufweisen, ist bekannt (KIMBALL 1983). Zudem gibt es Hinweise, dass heutige Sorten das zusätzlich angebotene CO₂ nicht optimal verwerten können. Aus züchterischer Sicht ist daher die Frage nach intraspezifischer Variabilität von großer Bedeutung,

¹ Thünen-Institut für Biodiversität, Bundesallee 50, D-38116 BRAUNSCHWEIG

² Julius Kühn-Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Erwin-Baur-Str. 27, D-06484 QUEDLINBURG

³ IPK Gatersleben, Corrensstraße 3, D-06466 Stadt Seeland, OT GATERSLEBEN

⁴ Thünen-Institut für Agrarklimaforschung, Bundesallee 50, D-38116 BRAUNSCHWEIG

* Ansprechpartner: Esther MITTERBAUER, esther.mitterbauer@vti.bund.de

soll der CO₂-Düngeeffekt gezielt nutzbar gemacht werden. Diese Fragestellung fand bislang nur wenig Berücksichtigung. So ist die Untersuchung von 17 Reislinien, die unter verschiedenen CO₂-Konzentrationen angebaut wurden, die bislang umfassendste (ZISKA et al. 2012).

Der vorliegende Beitrag berichtet über erste Ergebnisse aus einem Freilandexperiment mit einer umfangreichen Population von Wintergerstegenotypen, die unter verschiedenen CO₂-Konzentrationen aufwuchsen und im Hinblick auf physiologische, morphologische sowie Wachstums- und Ertragsmerkmale phänotypisiert und anschließend unter Berücksichtigung der Populationsstruktur assoziationsgenetisch analysiert wurden.

Material und Methoden

In Freilandversuchen am Thünen-Institut für Biodiversität werden über einen Zeitraum von drei Jahren jeweils 100 Wintergerstegenotypen in sogenannten open-top Kammern angebaut. Die Auswahl der Versuchsglieder erfolgte aufgrund einer vorangegangenen Genotypisierung unter Einbeziehung von 629 Gerste-Accessionen mit dem Illumina iSelect Chip (6808 SNP-Marker) (COMADRAN et al. 2012) und einer Clusteranalyse der in dem Panel enthaltenen 321 Wintergerstegenotypen (Enders, pers. Mitt.) anhand ihrer genetischen Distanz, Herkunft und ihres Alters. Die 100 Wintergerstegenotypen wurden parallel zu der ortsüblichen

Wintergerste-Aussaam im Feld (Mantelsaat) im September 2011 in Multi-Topfplatten im Gewächshaus ausgesät. Rund vier Wochen später wurden je 26 Versuchsgenotypen pro open-top Kammer in Beete inmitten der Mantelsaat gepflanzt, um einen Bestand zu simulieren (Abbildung 1).

Im März 2012 wurden die insgesamt zwölf open-top Kammern (Abbildung 2) über den Beeten platziert. Ab Ende März wurden in jeweils sechs Kammern die Versuchspflanzen aktiv mit Außenluft (~390 ppm CO₂, [amb]) bzw. mit Außenluft plus zusätzlichem CO₂ (700 ppm CO₂, e[CO₂]) belüftet.

Im ersten Anbaujahr wurden verschiedene phänotypische Parameter erfasst, darunter der Ertrag und Ertragsparameter. Unterschiede in der Kohlenstoffdiskriminierung und Blattmorphologie (Anzahl Stomata pro cm²) ausgewählter Genotypen konnten mittels Massenspektrometrie bzw. mittels Lackreliefs von Fahnenblättern nachgewiesen werden. Erste Merkmals-Markerassoziationen wurden anhand der einjährigen Ergebnisse berechnet.

Die Kovarianzanalysen wurden mit SAS 9.3 (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) unter Anwendung verschiedener Modelle (GLM/MLM) zu einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% durchgeführt. Die Auswertungen erfolgten jeweils nach zwei- und mehrzeiligen Genotypen getrennt in einem Modell, die Genotypen und die CO₂-Konzentration wurden als feste Effekte und die OTCs als zufällige Effekte in den Modellen berücksichtigt.

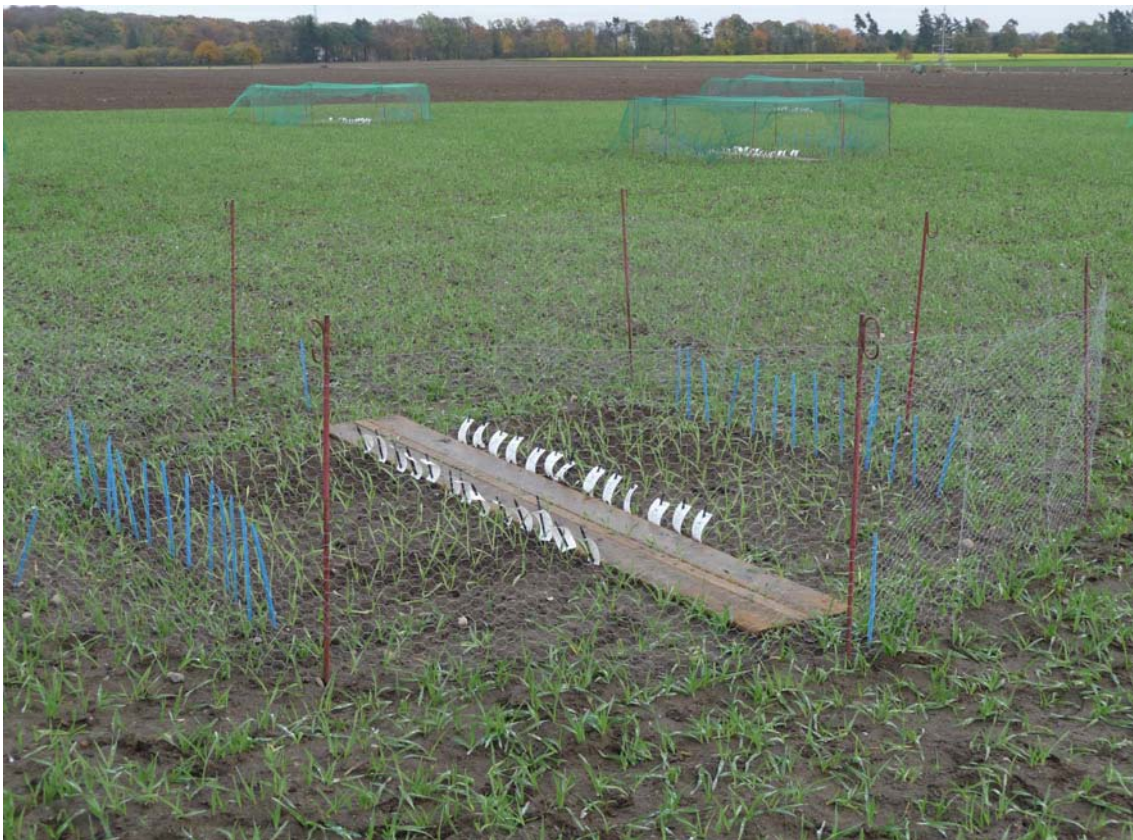


Abbildung 1: 26 Versuchsgenotypen pro open-top Kammer wurden in zwei Beete inmitten der Mantelsaat gepflanzt, um einen Bestand zu simulieren. Jede markierte Reihe entspricht einem Genotypen.

Figure 1: Twenty six genotypes per open-top chamber were transplanted in single rows among the shelter crop rows to simulate a closed canopy. Every labeled row corresponds to one genotype.



Abbildung 2: Zwölf open-top Kammern inmitten der Mantelsaat. Sechs der Kammern wurden mit Außenluft (~390 ppm CO₂), die übrigen sechs mit Außenluft plus zusätzlichem CO₂ (~700 ppm CO₂) belüftet.

Figure 2: Twelve open-top chambers on the field among the shelter crop. Six of the chambers were supplied with ambient air (~390 ppm CO₂) and with ambient air plus additional CO₂ (~700 ppm CO₂), respectively.

Ergebnisse und Diskussion

Die zwei- und sechszeiligen Genotypen unterschieden sich innerhalb der beiden Gruppen hinsichtlich ihres Tausendkorngewichts (TKG) signifikant voneinander. Erhöhtes CO₂ steigerte das TKG der zweizeiligen Genotypen signifikant um 4% von 53,5 auf 55,7 g. Das TKG der sechszeiligen Genotypen stieg um 1% von 44,7 auf 45,3 g.

Zweizeilige und sechszeilige Genotypen unterschieden sich jeweils hinsichtlich ihres Ertrages voneinander, jedoch hatte e[CO₂] lediglich einen signifikant positiven Einfluss auf sechszeilige Genotypen. Der Ertrag (Korngewicht pro Pflanze) stieg um 7% von 6,9 auf 7,4 g pro Pflanze bei den zweizeiligen Genotypen bzw. um 28% von 6,5 auf 8,3 g pro Pflanze bei den sechszeiligen Genotypen.

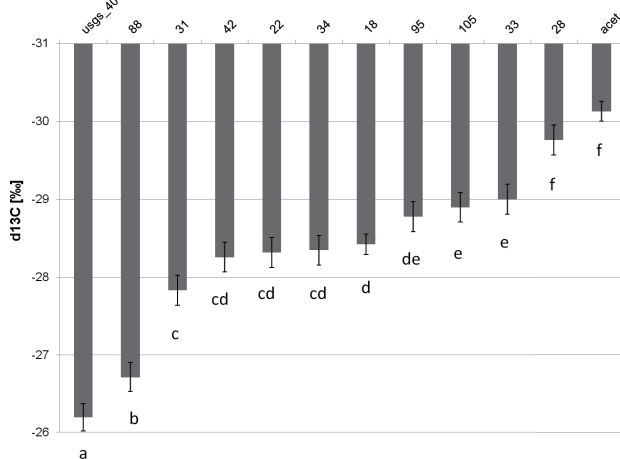


Abbildung 3: Die Kohlenstoffisotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) von zehn Genotypen gewachsen unter Außenluft und zwei Standards (usgs 40/acet). Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen ($P < 0,05$)

Figure 3: The carbon isotope signatures ($\delta^{13}\text{C}$) of ten genotypes grown under ambient air and two standards (usgs 40/acet). Different letters indicate significant differences between the genotypes ($P < 0.05$)

Hinsichtlich der Kornzahl pro Ähre unterschieden sich die zweizeiligen Genotypen voneinander, nicht jedoch die sechszeiligen Genotypen. Beide Gruppen reagierten mit einem signifikant positiven Zuwachs auf e[CO₂]. Die Kornzahl pro Ähre nahm bei zweizeiligen Genotypen um 11% von 19 auf 21 Körner pro Ähre und bei sechszeiligen Genotypen um 12% von 43 auf 48 Körner pro Ähre zu.

Die Anzahl Ähren pro Pflanze unterschied sich bei den zweizeiligen und sechszeiligen Genotypen von einander. e[CO₂] führte bei zweizeiligen Genotypen zu keiner signifikanten Erhöhung der Ährenzahl, bei sechszeiligen stieg sie um 15% von 3,3 Ähren pro Pflanze auf 3,8 Ähren pro Pflanze.

Mittels massenspektrometrischer Bestimmung konnten signifikante Unterschiede der Kohlenstoff-Isotopensignaturen ($\delta^{13}\text{C}$) zwischen zehn unter normaler Außenluft angebauten Genotypen nachgewiesen werden, die zwischen -26,19 und -30,13‰ lagen (Abbildung 3).

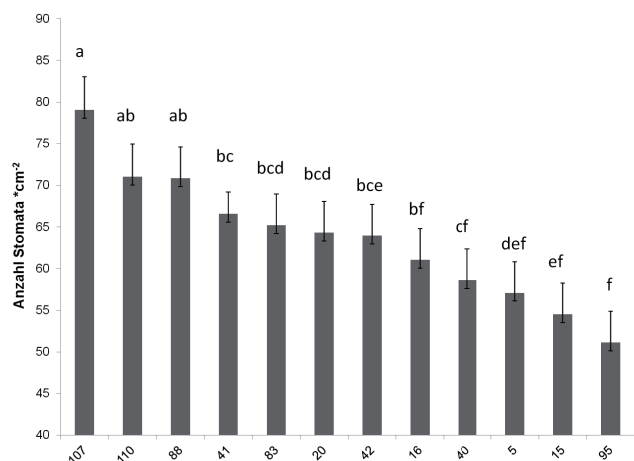


Abbildung 4: Die Anzahl Stomata pro cm² Blattfläche des Fahnenblatts 12 verschiedener Genotypen. Unterschiedliche Buchstaben kennzeichnen signifikante Unterschiede zwischen den Genotypen ($P < 0,05$)

Figure 4: The number of stomata per cm² leaf area of the flag leaf of 12 genotypes. Different letters indicate significant differences between the genotypes ($P < 0.05$)

Die Anzahl Stomata pro cm² der Fahnblätter von 12 unter normaler Außenluft angebauten Genotypen unterschieden sich signifikant von einander und variierte zwischen 51 und 79 Stomata pro cm² (Abbildung 4).

Erste Assoziationsanalysen (MLM in Tassel 3.0; <http://www.maizegenetics.net>) anhand von 3842 Markern, die auf der Morex×Barke Karte kartiert werden konnten und eine Minorallelfrequenz von >5% aufwiesen, wurden durchgeführt. Dabei wurden die Populationsstruktur und Verwandtschaft berücksichtigt. Verrechnet wurden jeweils die relativen Daten (e[CO₂]/[amb]). Es konnte je ein Marker auf den Chromosomen 2H und 5H gefunden werden, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit den Merkmalen Ertragszuwachs und TKG assoziiert sind ($P < 0,001$). Mit dem Merkmal Anzahl Körner pro Ähre sind vier Marker assoziiert, drei auf Chromosom 6H, eines auf Chromosom 3H. Für das Merkmal Anzahl Ähren pro Pflanze konnten keine assoziierten Marker identifiziert werden (Abbildung 5).

In diesem ersten Versuchsjahr ließen sich Unterschiede der untersuchten Genotypen hinsichtlich ihrer Reaktion auf e[CO₂] feststellen. Allerdings zeigten sich deutliche Unterschiede in den Reaktionen auf e[CO₂] zwischen den zwei- und sechszeiligen Genotypen. Die Gründe für diese Unterschiede müssen in weiteren Versuchen geklärt werden. Möglicherweise spielen hier die unterschiedlichen Senkenstärken zwischen den morphologisch verschiedenen Linien eine Rolle. Zusammenhänge mit der Kohlenstoffdiskriminierung während der Photosynthese oder der Blattbeschaffenheit können anhand der vorläufigen Ergebnisse nur vermutet werden. In den kommenden beiden Jahren müssen die Versuche wiederholt werden, um die vorliegenden Ergebnisse zu verifizieren und die Datengrundlage zu verbessern.

Danksagung

Die Förderung des Vorhabens erfolgt aus Mitteln des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) im Rahmen des Programms zur Innovationsförderung.

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

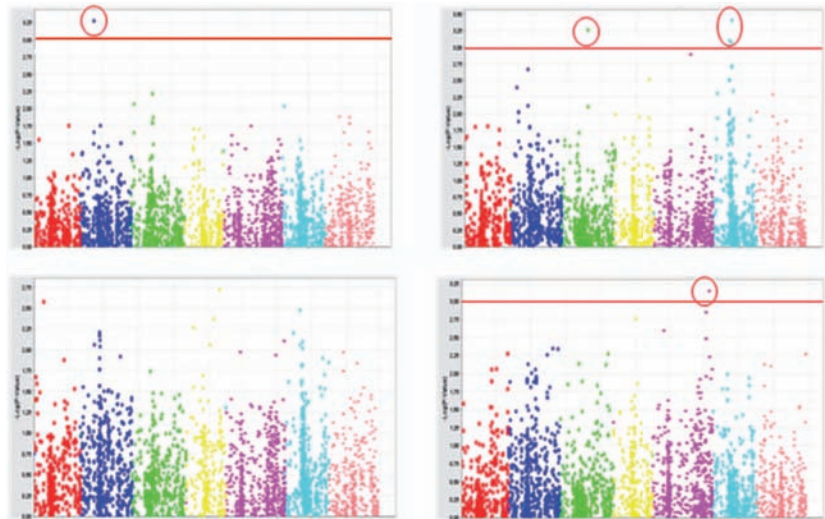


Abbildung 5: Scatterplotdarstellung der Markerpositionen auf den Chromosomen aufgetragen gegen den $-\log_{10}$ P-value für Ertrag, Kornzahl pro Ähre, Tausend-korngewicht und Anzahl Ähren pro Pflanze (im Uhrzeigersin von links oben). Die Line markiert den Schwellenwert $P=0,001$. Mit Kreisen markiert sind Marker, die mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit mit den Merkmalen assoziiert sind.

Figure 5: Scatterplot of chromosomal position (x axis) against $-\log_{10}$ GWAS P-value (y axis) for yield, number of seeds per ear, thousand-kernel weight and number of ears per plant (clockwise from top left). The line indicates the threshold of $P=0.001$. Markers associated with the traits are depicted by circles.

Literatur

- COMADRAN J, KILIAN B, RUSSELL J, RAMSAY L, STEIN N, GANAL M, SHAW P, BAYER M, THOMAS W, MARSHALL D, HEDLEY P, TONDELLIA, PECCHIONI N, FRANCIA E, KORZUN V, WALTHERA, WAUGH R, 2012: Natural variation in a homolog of *Antirrhinum CENTRORADIALIS* contributed to spring growth habit and environmental adaptation in cultivated barley. *Nature Genet* 44, 1388-1392.
- KIMBALL BA, 1983: Carbon-dioxide and agricultural yield - an assemblage and analysis of 430 prior observations. *Agron J* 75, 779-788.
- LONG SP, AINSWORTH EA, LEAKEY ADB, NÖSBERGER J, ORT DR, 2006: Food for thought: Lower-than-expected crop yield stimulation with rising CO₂ concentrations. *Science* 312, 1918-1921.
- MEEHL GA, STOCKER TF, COLLINS WD, FRIEDLINGSTEIN P, GAYE AT, GREGORY JM, KITOH A, KNUTTI R, MURPHY JM, NODA A, RAPER SCB, WATTERSON IG, WEAVER AJ, ZHAO ZC, 2007: Global climate projections. In: SOLOMON S, QIN D, MANNING M, CHEN Z, MARQUIS M, AVERYT KB, TIGNOR M, MILLER HL (Eds.), *Climate change 2007: The physical science basis. Contribution of Working Group I to the Fourth Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change*. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- ZISKA LH, BUNCE JA, SHIMONO H, GEALY DR, BAKER JT, NEWTON PCD, REYNOLDS MP, JAGADISH KSV, ZHU C, HOWDEN M, WILSON LT, 2012: Food security and climate change: on the potential to adapt global crop production by active selection to rising atmospheric carbon dioxide. *Proc Roy Soc B Biol Sci* 279, 4097-4105.

Effect of elevated atmospheric CO₂ level on the abiotic and biotic stress tolerance of cereals

Szilvia Bencze^{1*}, Krisztina Balla¹, Tibor Janda¹, Gyula Vida¹ and Ottó Veisz¹

Abstract

Effect of elevated CO₂ level (EC) was studied on the tolerance of cereals to elevated temperature and drought and on the resistance of wheat to fungal diseases. In general, elevated growth temperature did not affect final grain size, thus having less harmful effects than heat stress or drought during grain-filling. The plants subjected to low water supply levels or elevated temperature had higher biomass and grain yield at EC than at the ambient level. Susceptible wheat varieties were, however, usually more prone to diseases when grown at EC, while resistant varieties remained resistant even at EC.

Keywords

Barley, disease resistance, drought, durum, global warming, high temperature, oat, triticale, wheat

Introduction

The CO₂ concentration of the atmosphere has been steadily increasing since the beginning of the industrial era, reaching a value 40% higher nowadays than the last stable level. The greenhouse effect is considered as one of the main driving forces of global warming of the Earth's surface causing a change in climate which results in considerable uncertainty in crop production due to e.g. lack of precipitation or excessive rainfall, a higher frequency of heat days or early spring frosts.

Elevated atmospheric CO₂ levels also have direct impacts on plants: CO₂ assimilation and transpiration is positively affected and as a result of water use efficiency and rate of organic matter accumulation is increased (TUBA et al. 1994). Crop yield is affected not only in quantitative but also in qualitative terms, as elevated CO₂ may change the nutrient demand and uptake of plants, and cause a dilution of various elements in plant tissues. The change in the composition of plant parts, together with a higher level of protective compounds produced in response to elevated CO₂ also affect infection severity of plant pathogens, while the reduced stomatal opening and lower humidity on the plant surface may hinder the penetration of certain pathogens (HIBBERD et al. 1996, McELRONE et al. 2005, CHAKRABORTY et al. 2008, EASTBURN et al. 2011).

Increased CO₂ levels during the growth of cereals result in better resistance to frost (VEISZ 1997, HARNOS et al. 1998). The rate of net photosynthesis and water use efficiency (WUE) of C₃ plants are higher at elevated CO₂ also in

water-limited environments (TUBA et al. 1996). Although high temperature during anthesis and grain filling causes reductions in kernel number and size, kernels per spikelet, grain yield and harvest index (BLUMENTHAL et al. 1995), the effects of heat stress can be reduced by elevated CO₂ (TAUB et al. 2000, BENCZE et al. 2004, KADDOUR and FULLER 2004). High temperatures may, however, have negative effects on flour quality (BLUMENTHAL et al. 1995).

Realizing the importance of interactions between elevated CO₂ and other environmental factors in cereal production, the staff of the Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, began research on the impacts of elevated CO₂ on a wide basis including nutrient supply, elevated growth temperature, drought and heat stress during grain filling, and some fungal pathogens as biotic stress factors. The present paper discusses the effect of elevated CO₂ level on the resistance of a variety of small grain cereal species to biotic and abiotic stresses, based on results of experiments carried out in the Martonvásár phytotron.

Materials and methods

A series of experiments was conducted under controlled environmental conditions in Conviron PGV-36 growth chambers in the phytotron of the Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, HAS, Martonvásár, Hungary. Varieties of small grain cereal species were chosen for the tests. Four seedlings in the one-leaf stage were planted directly (spring varieties) or after vernalization (4°C, 42 d) (winter varieties) in 2.8 l pots. There were at least 8 pots per genotype and treatment. The pots were placed randomly in the growth chambers and rearranged regularly.

The plants were watered daily and supplied with nutrients in tap-water (0.33 g·l⁻¹ Volldünger Linz solution, Austria, 3 dl·pot⁻¹) two times per week until the beginning of the first stress treatment (for the experiment on low nitrogen (N) supply the information given below applies). Growth conditions in the chambers were the same, except for atmospheric CO₂ level, which was either ambient *i.e.* normal (NC, 390 µmol·mol⁻¹) or elevated (EC, 750 µmol·mol⁻¹). Temperature was changed weekly increasing from 10/12/10.7°C (min/max/mean) at the beginning 20/24/22.7°C at maturity (TISCHNER et al. 1997). The maximum photosynthetic photon flux density increased from 280 to 400 µmol·m⁻²·s⁻¹.

The following treatments were applied as abiotic environmental factors: (i) low N supply with no added N above that provided in the soil, compared to 400 mg N·kg⁻¹ soil

¹ Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, HAS, P.O.Box 19, H-2462 MARTONVÁSÁR

* Corresponding author: Szilvia BENCZE, bencze.szilvia@agrar.mta.hu

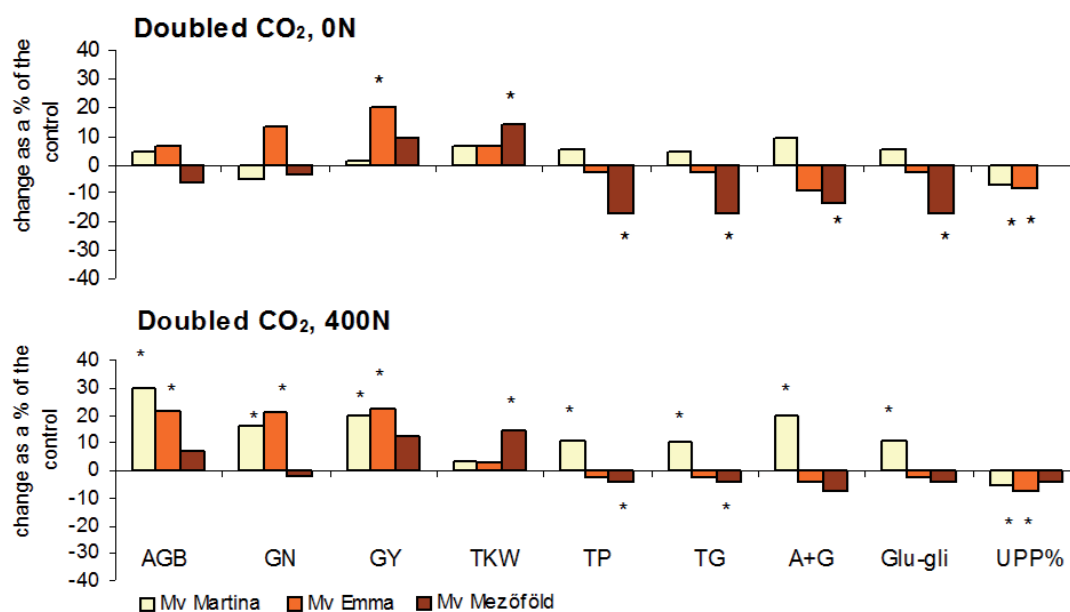


Figure 1. Impact of nitrogen supply on the development and grain quality of winter wheat grown at elevated CO₂ (*significant at $P < 0.05$ compared to the control: 400 mg·kg⁻¹ soil N, ambient CO₂). AGB, aboveground biomass; GN, grain number; GY, grain yield per plant; TKW, thousand kernel weight; TP, total protein content; TG, total gluten content; A+G, albumins and globulins; Glu-gli, glutenin to gliadin ratio; UPP%, unextractable polymeric protein content (determined with HPLC according to BATEY et al. (1991) and GUPTA and MACRITCHIE (1994)).

dry weight (in the form of NH₄NO₃ in ten applications until heading); (ii) heat stress during grain filling (35°C max. temperature for 15 d, 8 h daily, starting 12 d after heading); (iii) elevated growth temperature (+2°C from seedling stage, compared to ambient levels); (iv) drought (7 d water withdrawal, beginning 10 d after heading).

To study the impact of elevated CO₂ on disease severity, artificial inoculations with uredospore suspensions of leaf rust (LR, *Puccinia triticina*) and stem rust (SR, *Puccinia graminis*), and conidia of Fusarium head blight (FHB, *Fusarium culmorum*) were applied on plants of three winter wheat varieties differing in resistance levels (for details see BENCZE et al. 2013). The disease severity of spontaneously occurring powdery mildew (PM, *Blumeria graminis*) was evaluated twice, using a 0-9 scale (SAARI and PRESCOTT 1975). The disease progress of LR, SR and FHB was monitored till early maturity. The results were evaluated with Mann-Whitney Test (SPSS 16.0).

Results and discussion

Effect of nitrogen on winter wheat grown at elevated CO₂

Elevated CO₂ has been reported to lead to more intense biomass accumulation (KIMBALL et al. 1995, HARNOS et al. 1998). However, the stimulating effect of elevated CO₂, as was found here, is dependent on the nutrient supply, and especially on the availability of N (Figure 1). At low N, EC had no significant effect on biomass production while one variety still had higher grain yield. At optimal N supply, however, significant increases in biomass, grain number and grain yield per plant were recorded in two varieties in response to EC. One variety had increased thousand kernel

weight (TKW) at both N levels due to elevated CO₂, but at low N it had lower protein and gluten contents and glutenin to gliadin ratio in the grain. The decline in the unextractable polymeric protein content in two varieties suggested a possible weakening of dough due to elevated CO₂.

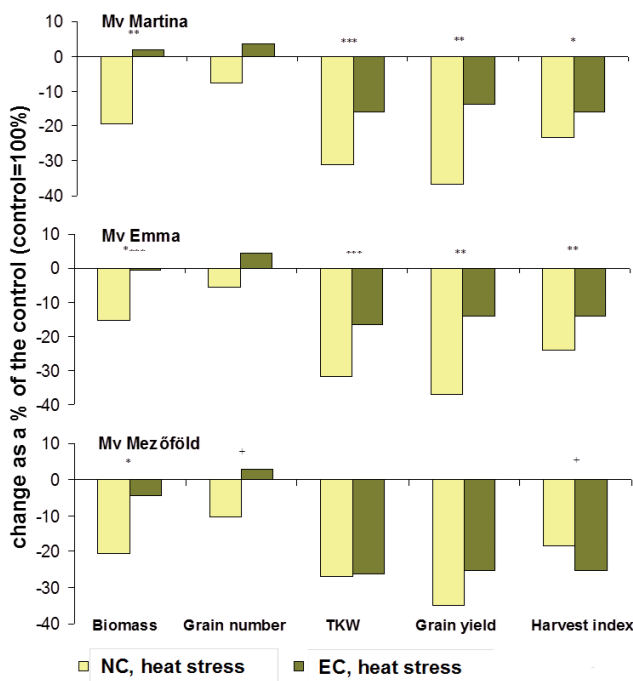


Figure 2. Effect of elevated CO₂ level and heat stress on yield and yield components of winter wheat (Control = ambient temperature and CO₂; NC, normal CO₂ level; EC, elevated CO₂ level; significance levels are indicated for the difference between NC and EC)

Effect of elevated CO₂ on heat stress tolerance of wheat

EC resulted in more intense biomass accumulation also in heat stressed plants, which had similar biomass values to unstressed plants grown at NC (Figure 2). Heat stress caused a 16-24% decrease in TKW in all the varieties at ambient CO₂ level, resulting in a 19-35% loss in grain yield (significant in two varieties). This was similar to results of BLUMENTHAL et al. 1995. When grown at high CO₂, two varieties tolerated heat stress better as both TKW and grain yield were significantly higher at doubled CO₂ than at the ambient level, though the values were still lower than the control. In the third variety, EC resulted in a higher grain number causing a slight increase in grain yield. Heat stress caused a significant increase in grain protein content but the decrease in gluten index indicated deterioration of gluten quality in two varieties (Figure 3). EC had, however, counteracting effects on protein content.

Effect of elevated CO₂ and growth temperature on cereals

Elevated growth temperature, 2°C higher than the ambient level, resulted in a decrease in biomass accumulation, grain number and yield per plant and in reduced harvest index (Figure 4). This was due to a faster phenological development; as heading and maturation took place on average 4 and 6 days earlier, respectively, than at the ambient temperature. However, TKW and grain protein content did not change in response to elevated growth temperature, suggesting a more harmonious development of the plants than in the case of heat stress. When the plants were grown at EC, the loss of grain yield due to elevated temperature was fully compensated by increased grain number and TKW.

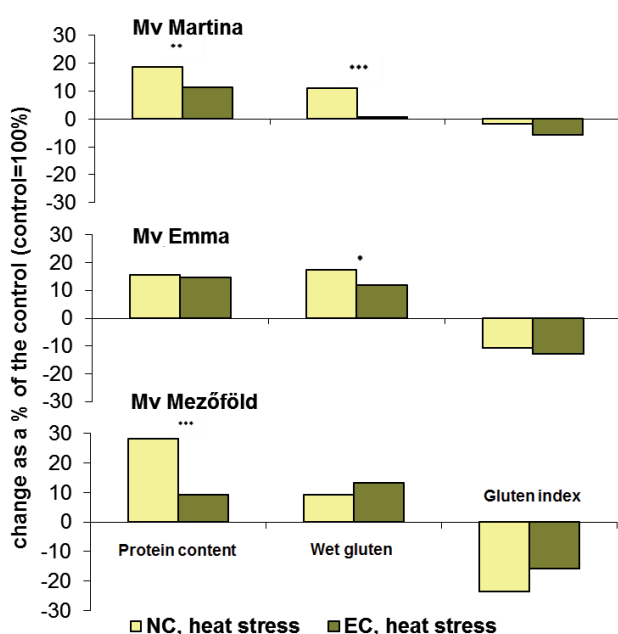


Figure 3. Effect of elevated CO₂ level and heat stress on quality traits of winter wheat (Control = ambient temperature and CO₂; NC, normal CO₂ level; EC, elevated CO₂ levels; significance levels indicate the difference between NC and EC)

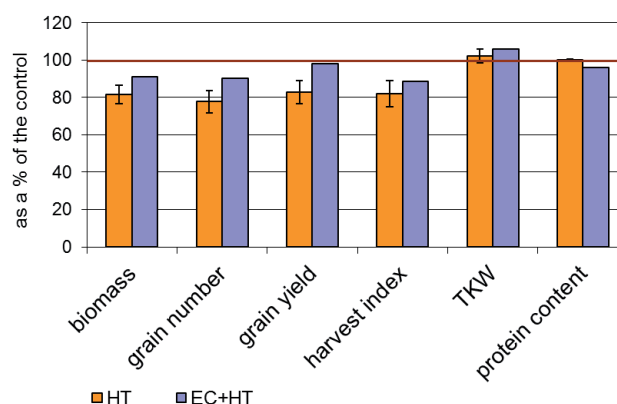


Figure 4. Effect of elevated growth temperature on mean performance of cereals at ambient and elevated CO₂ levels (Control = ambient temperature and CO₂ level; ET, elevated temperature; EC, elevated CO₂ level; investigated varieties: 'Petra' (winter barley), 'Bezostaja 1', 'Apache', 'Libellula', 'Mv Regiment', 'Mv Béres', 'Mv Emma' (winter wheat), 'Kitaro' (winter triticale), 'Jubilant' (spring barley), 'Mv Pehely', 'Kwant' (spring oat))

Effect of elevated CO₂ and drought on cereals

Drought stress had a severe effect, very similar to heat stress, on grain yield per plant; mainly due to decreased TKW (Figure 5). There was also a slight decrease in grain number per plant, which was eliminated when the plants were grown at EC. Although there was some increase of TKW in response to EC also under drought, CO₂ enrichment probably had more influence in the period preceding heat stress than during or after it. Grain protein content was increased by drought as a result of a decrease in starch accumulation.

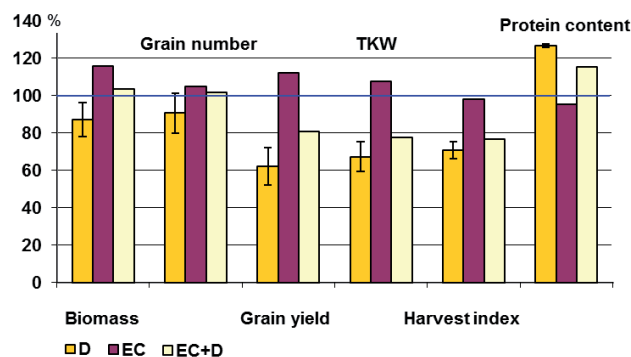


Figure 5. Effect of elevated CO₂ on mean performance of cereals under drought (Control = ambient temperature and CO₂ level; D, drought stress; EC, elevated CO₂ level; investigated varieties: 'Petra' (winter barley), 'Libellula', 'Mv Regiment', 'Mv Mambó' (winter wheat), 'Mv Makaróni' (winter durum), 'Lona' (spring wheat), 'Mv Pehely' (spring oat))

Effect of elevated CO₂ on wheat diseases

EC had also a considerable impact on the diseases severity of wheat. Susceptible varieties exhibited rarely similar but usually more severe symptoms of PM, SR and LR at EC than at the ambient level (Table 1). There was only one exception recorded for increased resistance to LR; in the highly susceptible variety at seedling stage. Resistant varieties, however, remained resistant even at EC. When the whole spikes were inoculated with a suspension of FHB conidia,

Table 1. Change in disease severity of wheat varieties in response to elevated CO₂ (LR, leaf rust; SR, stem rust; PM, powdery mildew; FHB, Fusarium head blight; –, not tested; NS, no significant change; ↑, more severe; ↓, less severe; +, *, **, ***, significantly at $P < 0.1, 0.05, 0.01$ and 0.001 , respectively; NS, not significant; R, resistant)

Variety	LR seedling stage	LR adult plant	SR	PM	FHB single floret inoculation	FHB whole spike inoculation
Alcedo	↓ ***	-	-	-	-	-
Mv Regiment	↑ +	↑ ***	NS	R	↓ *	NS
Mv Emma	-	↑ ***	↑ **	↑ ***	↑ +	↑ *
Mv Mambó	-	R	R	↑ ***	NS	↑ *

two varieties exhibited increased susceptibility while there was no change in the third variety. In the case of single floret inoculation with FHB, this latter variety showed increased resistance at high CO₂, while there was no change or FHB was more severe in the other two varieties.

The above results suggest that EC had very favourable effects on plants under high temperature stress or drought, as it could decrease or eliminate their negative effects on yield parameters. In the case of diseases, however, more severe symptoms were found on plants of the susceptible varieties at high CO₂, but resistant varieties remained unaffected, exhibiting no visible symptoms even when grown at EC.

Acknowledgements

This research was supported by the projects TÁ-MOP-4.2.2.b-10/1-2010-0025 and TÁMOP-4.2.2.A-11/1KONV-2012-0064 and by a grant from the National Scientific Research Fund OTKA K-105949.

References

- BATEY IL, GUPTA RB, MACRITCHIE F, 1991: Use of size-exclusion high-performance liquid chromatography in the study of wheat flour proteins: An improved chromatographic procedure. *Cereal Chem* 68, 207-209.
- BENCZE S, VEISZ O, BEDŐ Z, 2004: Effects of high atmospheric CO₂ and heat stress on phytomass, yield and grain quality of winter wheat. *Cereal Res Commun* 32, 75-82.
- BENCZE S, VIDA G, BALLA K, VARGA-LÁSZLÓ E, VEISZ O, 2013: Response of wheat fungal diseases to elevated atmospheric CO₂ level. *Cereal Res Commun* 41, in press.
- BLUMENTHAL C, BEKES F, GRAS PW, BARLOW EWR, WRIGLEY CW, 1995: Identification of wheat genotypes tolerant to the effects of heat stress on grain quality. *Cereal Chem* 72, 539-544.
- CHAKRABORTY S, LUCK J, HOLLAWAY G, FREEMAN A, NORTON R, GARRETT KA, PERCY K, HOPKINS A, DAVIS C, KARNOSKY DF, 2008: Impacts of global change on diseases of agricultural crops and forest trees. *CAB Rev Perspect Agric Vet Sci Nutr Natural Resour* 3, 1-15.
- EASTBURN DM, MCELDRONE AJ, BILGIN DD, 2011: Influence of atmospheric and climatic change on plant-pathogen interactions. *Plant Pathol* 60, 54-69.
- GUPTA RB, MACRITCHIE F, 1994: Allelic variation at glutenin subunit and gliadin loci, *Glu-1*, *Glu-3* and *Gli-1*, of common wheats. II. Biochemical basis of the allelic effects on dough properties. *J Cereal Sci* 19, 19-29.
- HARNOS N, VEISZ O, TISCHNER T, 1998: Effects of elevated CO₂ concentration on the development and yield components of cereals. *Acta Agron Hung* 46, 15-24.
- HIBBERD JM, WHITBREAD R, FARRAR JF, 1996: Effect of elevated concentrations of CO₂ on infection of barley by *Erysiphe graminis*. *Physiol Mol Plant Pathol* 48, 37-53.
- KADDOUR AA, FULLER MP, 2004: The effect of elevated CO₂ and drought on the vegetative growth and development of durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars. *Cereal Res Commun* 32, 225-232.
- KIMBALL BA, PINTER PJ, GARCIA RL, LaMORTE RL, WALL GW, HUNSAKER DJ, WECHSUNG G, WECHSUNG F, KARTSCHALL T, 1995: Productivity and water use of wheat under free-air CO₂ enrichment. *Global Change Biol* 1, 429-442.
- MCELDRONE AJ, REID CD, HOYE KA, HART E, JACKSON RB, 2005: Elevated CO₂ reduces disease incidence and severity of a red maple fungal pathogen via changes in host physiology and leaf chemistry. *Global Change Biol* 11, 1828-1836.
- SAARI EE, PRESCOTT JM, 1975: A scale for appraising the foliar intensity of wheat disease. *Plant Dis Rep* 59, 377-380; (cited in STUBBS et al. 1986).
- STUBBS RW, PRESCOTT JM, SAARI EE, DUBIN HJ, 1986: *Cereal disease methodology manual*. CIMMYT, Mexico.
- TAUB DR, SEEMAN JR, COLEMAN JS, 2000: Growth in elevated CO₂ protects photosynthesis against high-temperature damage. *Plant Cell Environ* 23, 649-656.
- TISCHNER T, KŐSZEGI B, VEISZ O, 1997: Climatic programmes used in the Martonvásár Phytotron most frequently in recent years. *Acta Agron Hung* 45, 85-104.
- TUBA Z, SZENTE K, KOCH J, 1994: Response of photosynthesis, stomatal conductance, water use efficiency and production to long-term elevated CO₂ in winter wheat. *J Plant Physiol* 144, 661-668.
- VEISZ O, 1997: Effect of abiotic and biotic environmental factors on the frost resistance of winter cereals. *Acta Agron Hung* 45, 247-255.

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

Feldstudien zur Vererbung der Trockenheitstoleranz von Hybridroggen in Mitteleuropa

Field studies on the inheritance of drought tolerance of hybrid rye in Central Europe

Stefan Haffke^{1*}, Marlen Hübner¹, Peer Wilde², Brigitta Schmiedchen²,
Barbara Kusterer³, Bernd Hackauf⁴ und Thomas Miedaner^{1*}

Abstract

Drought stress will play a major role in the 21st century in Europe's agriculture. Rye will be affected more than other crops, because rye is typically grown in marginal regions with sandy soils of low water-holding capacity and less rainfall. Therefore, drought tolerant rye cultivars are urgently needed. The main objective of our study was to evaluate the drought stress tolerance of rye hybrids using large-scaled field experiments. We evaluated three populations. Pop A und Pop B tested with 220 F_{3:4} lines each belong to the 'Petkus' gene pool, Pop C tested with 240 F_{3:4} lines belongs to the 'Carstens' gene pool. All lines were testcrossed and evaluated at three locations: Wohlde and Petkus in Germany and Walewice, Poland. Pop A und B were tested in 2010 and 2011, Pop C in 2011 and 2012. All genotypes were evaluated in irrigated and non-irrigated variants in a split-block-design. Natural drought stress occurred mainly in the second quarter of all three years. The most sensitive trait was grain yield. Grain yield differences ranged from 2 to 41% with an average of 19%. Differences between irrigated and non-irrigated variants were significant in 15 out of 18 environment-population combinations. Significant genotype×irrigation interaction variance occurred in nine combinations, but had only a minor effect on genotype ranking. Higher error variances caused lower heritabilities in the non-irrigated variant. In conclusion, indirect selection for drought-tolerant genotypes under irrigated conditions would increase selection gain and also lead to higher yielding cultivars under drought stress.

Keywords

Hybrid breeding, indirect selection, population parameter, *Secale cereale*, water stress

Einleitung

Der Klimawandel wird in diesem Jahrhundert in Mitteleuropa einen zunehmenden Einfluss auf den Ackerbau

haben. Aktuelle Prognosen rechnen mit einer Zunahme der Niederschläge in Wintermonaten, während die Niederschlagsmenge im Frühjahr und Sommer in manchen Regionen stark abnehmen wird (DWD 2011). Roggen wird vorrangig auf nährstoffarmen und leichten Standorten angebaut, weil er hier gegenüber anderen Getreidearten erhebliche Wettbewerbsvorteile besitzt (ECOPORT DATABASE 2002). Deshalb wird er trotz seiner Stresstoleranz von dieser Entwicklung besonders stark betroffen sein, da diese Standorte auf Grund der geringeren Sorptionskraft ihrer Böden noch stärker durch Trockenstress beeinträchtigt sind. Trotzdem gibt es bisher nur eine Studie (HÜBNER et al. 2013), die sich mit der spezifischen Trockentoleranz von Roggen beschäftigt.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial

Das Pflanzenmaterial umfasste insgesamt drei Populationen aus aktuellen Zuchtprogrammen der beiden Formkreise des Roggens. Der Saateiterpool Petkus wurde an Hand von zwei Populationen (A; B) untersucht. Aus zwei biparentalen Kreuzungen (A: A×B und B: A×C) wurden jeweils 220 F_{3:4} Linien entwickelt und anschließend mit einem unverwandten Tester aus dem Petkuser Formenkreis gekreuzt. Auf Seiten des Pollenelternpools wurden 240 Nachkommen einer Kreuzung (R×S) zu F_{3:4} Linien weitergeführt und ebenfalls mit einem Tester aus dem Petkuser Formenkreis gekreuzt.

Feldversuch

Die Versuche wurden über drei Jahre an drei Standorten durchgeführt: In Wohlde, Niedersachsen, Petkus, Brandenburg und in Walewice, Polen. Die Populationen A und B wurden in den Jahren 2010 und 2011 und die Population C in den Jahren 2011 und 2012 geprüft. Die Parzellen waren rund 5 m² groß, der Versuch wurde mit einer hohen Düngungs- und Pflanzenschutzintensität durchgeführt. Für das Versuchsdesign wurde eine Streifenanlage in zwei

¹ Landessaatuchtanstalt, Universität Hohenheim, D-70593 STUTTGART

² KWS LOCHOW GMBH, D-29303 BERGEN

³ Hybro GmbH & Co. KG, D-17291 SCHENKENBERG

⁴ Julius Kühn-Institut, Bundesforschungsinstitut für Kulturpflanzen, Institut für Züchtungsforschung an landwirtschaftlichen Kulturen, D-18190 SANITZ

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

Tabelle 1: Kornerträge (dt·ha⁻¹) über die bewässerte (B) und unbewässerte (UB) Variante sowie die Ertragsdifferenzen (ΔB, %) an den einzelnen Standorten für zwei Populationen des Saatelter- und eine Population des Pollenelterformenkreises

Table 1: Grain yield (dt·ha⁻¹) for irrigated (B) and non-irrigated (UB) variant, difference in grain yield (ΔB, %) for two populations of the seed parent- and one population of the pollen parent gene pool at each location

		Saatelter			Pollenelter					
		Pop A (A×B)		ΔB (%)	Pop B (A×C)		ΔB (%)	Pop C (R×S)		
		B	UB		B	UB		B	UB	ΔB (%)
2010	Wohlde	81.5	59.1	27.5** ^a	75.2	54.6	27.4** ^a	-	-	-
	Petkus	52.0	49.7	4.4*	51.1	49.3	3.5	-	-	-
	Walewice	53.8	52.8	1.9	50.8	49.8	2.0	-	-	-
	Mittel	62.4	53.9	13.6	59.0	51.2	13.2	-	-	-
2011	Wohlde	99.1	73.0	26.3**	97.8	58.2	40.5** ^a	101.2	79.1	21.8**
	Petkus	87.9	61.9	29.6** ^a	92.0	60.7	34.0** ^a	81.3	59.2	27.2**
	Walewice	92.5	82.9	10.4** ^a	83.6	71.8	14.1** ^a	85.1	72.4	15.0** ^a
	Mittel	93.2	72.6	22.1	91.3	63.6	30.3	89.2	70.2	21.3
2012	Wohlde	-	-	-	-	-	-	98.9	86.5	12.5**
	Petkus	-	-	-	-	-	-	82.8	70.9	14.4*
	Walewice	-	-	-	-	-	-	97.5	84.5	13.3** ^a
	Mittel	-	-	-	-	-	-	93.1	80.6	13.4

*,** signifikante Ertragsunterschiede zwischen bewässertem und unbewässertem Variante ($P < 0.05$ bzw. $P < 0.01$)

^a signifikante Genotyp×Bewässerungsinteraktion bei $P \leq 0.1$

Wiederholungen gewählt. Die Genotypen der bewässerten und unbewässerten Variante lagen dabei unmittelbar gegenüber, um Bodenunterschiede zu minimieren und die Genotyp×Bewässerungs-Interaktion exakter zu ermitteln. Die bewässerte Variante wurde mittels einer Tröpfchenbewässerung bewässert, die je nach Ort und Wetter individuell geregelt wurde.

Statistische Auswertung

Die gesamte Analyse wurde in drei Schritten mit Plabstat (UTZ 2010) durchgeführt:

- (1) Einzelverrechnung: für jede Variante, jeden Ort und jede Population wurde eine Gitteranalyse gerechnet;
- (2) Serienverrechnung, getrennt für die Variante „Bewässert“ bzw. „Unbewässert“ und für die Populationen A, B und C mit Hilfe der adjustierten Gittermittelwerte (BLUEs);
- (3) Faktorielle Serienanalyse über die Varianten „Bewässert“ und „Unbewässert“ hinweg zur Bestimmung des Haupteffekts der Bewässerung und der Genotyp×Bewässerungs-Interaktion. Hierbei wurden nur die Jahr×Orts-Kombinationen mit einer signifikanten Genotyp×Bewässerungs-Interaktion für die Analyse herangezogen.

Ergebnisse

Das sensitivste Merkmal war der Kornertrag. Andere Merkmale, wie Wuchshöhe, Ährenschieben und Tausendkorngewicht, wiesen zwar Unterschiede zwischen bewässertem und unbewässertem Variante auf, diese waren aber geringer ausgeprägt als beim Kornertrag. Es ergaben sich Ertragsunterschiede von 1,9 bis 40,5% (Tabelle 1).

Eine signifikante Differenz der Erträge ergab sich in 15 von 18 Fällen, während immerhin in neun Fällen eine signifikante Genotyp×Bewässerungs-Interaktion nachgewiesen wurde. Bei Betrachtung über die Umwelten hinweg waren die genotypischen Varianzen bei allen drei Populationen signifikant (Tabelle 2). Die Interaktionsvarianzen mit dem Faktor Bewässerung waren in allen Fällen signifikant. Sie

Tabelle 2: Varianzkomponenten der faktoriellen Analyse über die bewässerte bzw. unbewässerte Variante (B:UB) und Heritabilitäten für die bewässerte (B) bzw. unbewässerte (UB) Variante für den Kornertrag

Table 2: Variance components for factorial analysis over irrigated/non irrigated variant (B:UB) and heritability for grain yield under irrigated (B) and non-irrigated (UB) variant

Parameter	Pop A	Pop B	Pop C
Varianzen B:UB:			
σ^2_G	3.82**	4.38**	5.26**
$\sigma^2_{G \times U}$	4.28**	4.32**	4.59**
$\sigma^2_{G \times B}$	0.88*	0.98*	2.31**
$\sigma^2_{G \times B \times U}$	0.92 ⁺	1.72**	1.65*
σ^2_e	15.18	13.89	8.71
Heritabilität B	0.62	0.70	0.49
Heritabilität UB	0.38	0.50	0.43

⁺, **, * Signifikant bei $P < 0.1$, 0.05 und 0.01 ; σ^2_G , genotypische Varianz; $\sigma^2_{G \times U}$, Genotyp×Umwelt-Interaktion; $\sigma^2_{G \times B}$, Genotyp×Bewässerungs-Interaktion; $\sigma^2_{G \times B \times U}$, Genotyp×Umwelt×Bewässerungs-Interaktion; σ^2_e , Fehler

machten bei Population A und B etwa die Hälfte der genotypischen Varianz aus, bei Population C hatten sie fast die gleiche Größe. Der davon für den Züchter nutzbare Anteil, die Genotyp×Bewässerungs-Interaktionsvarianz, war bei Population A und B gering, bei Population C machte er die Hälfte der genotypischen Varianz aus. Mittlere bis hohe Heritabilitäten ergaben sich in der bewässerten Variante. Bei den Populationen A und B lagen die Heritabilitäten der unbewässerten Variante deutlich unter denen der bewässerten Variante, bei Population C zeigten beide Varianten nur eine mäßige Heritabilität.

Die Erträge der bewässerten und unbewässerten Variante in Population A und B zeigten mittlere phänotypische und hohe genotypische Korrelationen (Abbildung 1). Für Population C zeigte sich eine signifikante ($P < 0.01$) phänotypische Korrelation von $r = 0.56$. Die genotypische Korrelation lag mit $r = 0.8$ in derselben Größenordnung wie bei Population A und B.

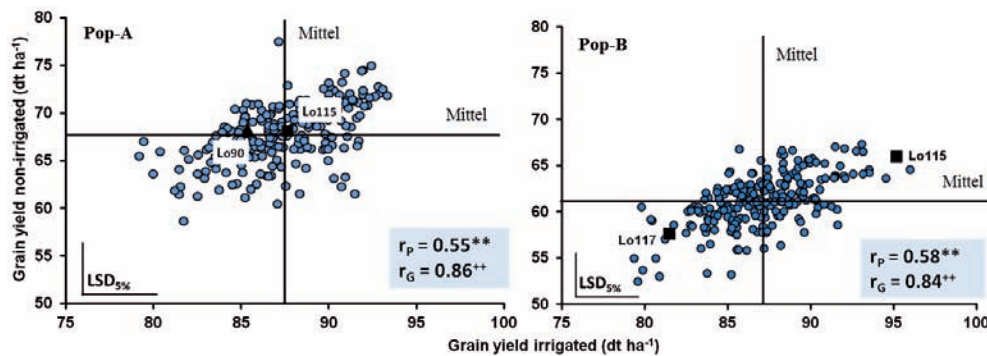


Abbildung 1: Kornerträge ($\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$) der bewässerten und unbewässerten Variante für die Populationen A und B sowie der beiden Elternlinien in den Umwelten mit signifikanter Genotyp×Bewässerungs-Interaktion (r_p , phänotypische Korrelation; r_G , genotypische Korrelation; $\text{LSD}_{5\%}$, Grenzdifferenz bei $P < 0.05$)

Figure 1: Grain yield ($\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$) of the irrigated versus non-irrigated variant for population A and B and their parents across environments with significant genotype×irrigation interaction variance

Schlussfolgerungen

An fast allen Standorten mit mittleren bis leichten Böden trat durch den geringen Niederschlag im zweiten Quartal der Jahre 2010 bis 2012 natürlicher Trockenstress auf. Deshalb führte die Tröpfchenbewässerung in der bewässerten Variante zu durchschnittlich 19% erhöhten Kornerträgen. Der Versuchsaufbau war eine geeignete Alternative gegenüber *rain-out shelters*, da in 5 m² Parzellen über tausend Prüfglieder unter natürlichen, ortsspezifischen Bedingungen getestet werden konnte. Weiterhin wurde durch eine hohe Bestandesdichte, hohe N Düngung und die eingeschränkte Randomisation versucht, Bodenunterschiede zu minimieren. Allerdings konnten nur dann Bewässerungs-Effekte erzielt werden, wenn die Witterungsbedingungen entsprechend trocken waren. Signifikante Unterschiede zwischen den beiden Varianten „bewässert“ und „unbewässert“ konnten dabei in den meisten Fällen nachgewiesen werden, lediglich die Population B in Petkus (2010) und der Versuch in Walewice (2010), der durch ein Hochwasser beeinträchtigt wurde, stellten eine Ausnahme dar. Trotz der ackerbaulichen Maßnahmen lagen die Heritabilitäten der unbewässerten Variante der Populationen A und B deutlich unter denen der bewässerten Variante. Ebenso weisen die hohen genetischen Korrelationen in allen drei Populationen auf geringe genotypische Unterschiede für Trockenstresstoleranz hin (HÜBNER et al. 2013).

Das untersuchte Material des Saatelter-Formenkreises zeigte trotz des erheblichen Trockenstresses, der durch einen durchschnittlichen Ertragsunterschied von 19% dokumentiert wird, offensichtlich bereits eine erhöhte Toleranz. Immerhin wurden im Mittel noch 67 $\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Pop. A) bzw. 62 $\text{dt}\cdot\text{ha}^{-1}$ (Pop. B) in der unbewässerten Variante gedroschen. Eine Ursache ist sicherlich die fortwährende Selektion durch die Züchter, die routinemäßig immer auch auf leichten Standorten mit entsprechenden Stressfaktoren prüfen. Bei den gefundenen Korrelationen führt eine Selektion in „normalen“ Umwelten bis zu einem gewissen Maße auch zu verbesserten Erträgen unter Trockenstressbedingungen (CATTIVELLI et al. 2008). Um Roggen den klimatischen Veränderungen weiter anzupassen, ist aufgrund der hohen genetischen Korrelationen eine indirekte Selektion innerhalb des aktuellen Zuchtmaterials vorzuziehen. Zudem kann bei Verzicht auf die Trockenstressvariante der Prüfumfang

verdoppelt werden, was die Selektionsintensität erhöht. Die höheren Heritabilitäten innerhalb der bewässerten Variante erlauben zudem eine höhere Selektionsgenauigkeit. Deshalb lässt eine Selektion unter bewässerten Bedingungen einen höheren Selektionserfolg erwarten als eine Selektion unter Stressbedingungen und sollte rascher zu trocken-toleranten Genotypen führen (HARRER und UTZ 1990).

Danksagung

Die Autoren möchten sich herzlich bei den technischen Teams der KWS LOCHOW GmbH und der KWS LOCHOW POLSKA Sp. z o.o. für die hervorragende Unterstützung bei der Datenerhebung bedanken. Die diesem Bericht zugrundeliegenden Vorhaben wurden mit Mitteln des BM für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (Förderkennzeichen 22013004) sowie des BM für Bildung und Forschung (Förderkennzeichen 0315445B) gefördert.

Literatur

- CATTIVELLI L, RIZZA F, BADECK F-W, MAZZUCOTELLI E, MASTRANGELO AM, FRANZIA E, MARÈ C, TONDELLI A, STANCA AM, 2008: Drought tolerance improvement in crop plants: An integrated view from breeding to genomics. *Field Crop Res* 105, 1-14.
- DWD, 2011: Drought conditions in Europe 2011. Issued by WMO RA VI Pilot RCC on Climate Monitoring, Lead Centre DWD. Deutscher Wetterdienst, Offenbach. (Available at: <http://www.dwd.de-Suche>)
- ECOPORT, 2002: *Secale cereale*. Plant, ID1929. EcoPort Foundation, Inc. (Available at: <http://ecoport.org/ep>)
- HARRER S, UTZ HF, 1990: Modellstudie zur Züchtung von Low-Input-Sorten am Beispiel des Mais. 41. Arbeitstagung der Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter im Rahmen der Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter, 20-22 Nov, 9-19. BAL Gumpenstein, Irnding.
- HÜBNER M, WILDE P, SCHMIEDCHEN B, DOPIERALA P, GOWDA M, REIF JC, MIEDANER T, 2013: Hybrid rye performance under natural drought stress in Europe. *Theor Appl Genet*, in press. DOI: 10.1007/s00122-012-1994-4
- UTZ HF, 2010: PLABSTAT. Computerprogramm für statistische Analyse für Pflanzenzüchtungsversuche. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgut-forschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Stuttgart.

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

Genetische Variabilität von Sommergerste unter Trockenstress in einem Rain Out Shelter

Genetic variability of spring barley concerning resistance to drought stress under a rain out shelter

Gabriela Reichenberger^{1*}, Chris-Carolin Schön² und Markus Herz¹

Abstract

As tolerance against drought stress becomes more and more an important challenge for breeders, it is necessary to identify and validate methods to screen and select for resistance to drought stress in barley. For this purpose a collection of 74 spring barley accessions was tested for the variability of important physiological parameters as chlorophyll content in green leaves, canopy temperature, carbon isotope discrimination and different agronomic parameters as protein content, thousand kernel weight, yield etc. Under drought stress, simulated in a rain out shelter, genotypes show significant differences concerning most of these parameters. Stress was set at the heading of the plants. In a second trial the barley genotypes were chemically treated with a 5% potassium iodide solution to induce drought stress under the conditions of a breeder's nursery. The so called chemical desiccation is an easy and cost efficient way to simulate drought stress. In comparison with the data of the desiccation under the rain out shelter it is possible to show correlations between these two different experiments. For genetic studies a couple of SNP markers are used to assess polymorphism between the barley cultivars. At the end of the project an association mapping approach will be performed to identify correlations between the genotype and the phenotype under drought stress.

Keywords

Association study, carbon isotope discrimination, chemical desiccation, tensiometer

Einleitung

Durch die ständig wachsende Weltbevölkerung ist es notwendig, immer mehr Nahrungsmittel zu produzieren. Aufgrund der begrenzten Anbaufläche müssen die Erträge der bebauten Flächen gesteigert werden. Daraus folgt, dass Verlustquellen, die den Ertrag senken minimiert werden müssen.

Eine ernst zu nehmende Bedrohung stellt der Klimawandel dar. Die Sommer werden zunehmen wärmer und weniger Niederschlagsreich. Einen Vorgeschmack lieferte der

heiße Sommer 2003. Das Pflanzenwachstum war in diesem Sommer in Europa um rund ein Viertel reduziert. Der von Versicherungswirtschaftlern geschätzte durchschnittliche Wertverlust durch diese Dürreperiode liegt in Deutschland bei rund 1,3 Mrd. Euro. Dieser Verlust muss letztendlich von den Verbrauchern durch erhöhte Lebensmittelpreise getragen werden (BRONOLD et al. 2009).

Da Pflanzen zum Großteil aus Wasser bestehen, muss eine ausreichende Wasserversorgung gewährleistet sein. So enthält das Protoplasma im Durchschnitt 80-95% Wasser. Es ist verständlich, dass ein geregelter Stoffwechsel nur bei ausreichender Wasserversorgung ablaufen kann (STEBING und SCHWANTES 1987). Ist eine Pflanze nicht ausreichend mit Wasser versorgt und leidet dadurch unter Trockenstress, führt das zu schwerwiegenden Auswirkungen in verschiedensten Stoffwechselwegen. Die erste Reaktion von Pflanzen, Trockenstress entgegenzuwirken, besteht darin, die Stomata zu schließen um weiteren Wasserverlust durch Transpiration zu vermeiden. Infolge dessen kann kein Gasaustausch mehr stattfinden, was zu einer sinkenden CO₂-Assimilation und letztendlich aufgrund verminderter Photosyntheseleistung, Energieabgabe in Form von Wärme, Chlorophyllabbau und der Nichtbildung von Assimilaten zu reduziertem Pflanzenwachstum führt (RAGHAVENDRA und SAGE 2011).

Je nach Zeitpunkt des Trockenstresses (früh: vor der Blütezeit; spät: während und nach der Blütezeit) reagieren die Pflanzen auf unterschiedliche Art und Weise. Bei frühem Stress ist die effektivste Lösung den Stress zu umgehen die „phänologische Flucht“ (REYNOLDS et al. 2005). Dabei verkürzt die Pflanze die Wachstumsperiode und beginnt früher mit der Blütezeit. Bei spätem Stress ist es fraglich, ob die Pflanzen durch die Veränderung von *Ppd* und *Vrn* Allelen den Zeitpunkt des Ährenwachstums verzögern. Dies resultiert in phänologischen Veränderungen, die mit einer erhöhten Trockenstressgewöhnung einhergehen (REYNOLDS et al. 2005).

Um auf Trockenstress selektieren zu können müssen zunächst relevante Selektionsmerkmale identifiziert werden. Darunter fallen phänologische, morphologische und physiologische Eigenschaften der Pflanzen. Um diese Merkmale auch in großen Populationen erfassen zu können, sollten

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, am Gereuth 6, D-85354 FREISING

² Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, TU München, Emil-Ramann-Straße 4, D-85354 FREISING

* Ansprechpartner: Gabriela REICHENBERGER, gabriela.reichenberger@lfl.bayern.de

die technischen Methoden einfach umzusetzen, schnell durchführbar und finanziell vertretbar sein. Diese Anforderungen gelten allgemein für alle Selektionsmerkmale. In der Pflanzenzüchtung wird bei der Selektion auf Trockenstress häufig nur auf ein Merkmal selektiert, da die Betrachtung mehrerer Merkmale oft sehr zeitaufwendig und kostenintensiv ist. Um effektiv auf Trockenstresstoleranz zu züchten ist die Beobachtung mehrerer Merkmale unabdingbar, da die Beobachtung eines einzelnen Merkmals keine zuverlässigen Ergebnisse liefert. Das kommt daher, dass sich die Merkmalsausprägung infolge von Wassermangel und je nach Stressintensität und -dauer, sowie dem Alter der Pflanze und unter anderen Umweltbedingungen ändert.

Verminderte Wasseraufnahme aus dem Boden führt auch zu verminderter Nährstoffaufnahme. Dabei lässt sich der N-Gehalt in den Pflanzen leicht durch sogenannte N-Tester wiedergeben. Durch eine Transmissionsmessung kann der Chlorophyllgehalt in grünen Blättern abgeschätzt werden. Über das Erlangen von Informationen über die Messmethodik, die phänotypische Reaktion der Pflanzen auf Trockenstress, sowie Informationen über die Genetik der Pflanzen soll es über Kreuzung und Selektion gelingen die Grundlage für leistungsfähige neue Sorten bereit zu stellen.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Feldversuche

Die vorliegende Studie an Sommergerste wurde in drei aufeinanderfolgenden Jahren von 2009 bis 2011 mit 57 bzw. 78 Sorten und Stämmen durchgeführt. Das Sortiment setzt sich aus Sorten unterschiedlichster Herkunft zusammen. Die meisten Sorten stammen aus Deutschland, darunter sind viele alte deutsche Sorten. Ein Großteil des Sortiments stammt aus Ländern mit trockenen und heißen Sommern. Weiter sind DH-Linien, einige Nacktgersten und Sorten und Stämme von bayerischen Züchtern ausgewählt worden (*Tabelle 1*).

Um einen Vergleich zwischen trockengestressten und nicht gestressten Pflanzen sicherzustellen wurde das gesamte Sortiment in verschiedenen Umwelten unter unterschiedlichen Bedingungen angebaut.

Tabelle 1: Herkünfte der im Testsortiment enthaltenen Sorten

Table 1: Origin of the tested cultivars

Herkunft	Anzahl	Beispiele
Deutschland, darunter alte Sorten	36	Power, Steina Ursula
Von bayerischen Züchtern	13	Steward, Br8993a3
Länder mit heißen, trockenen Sommern	16	Mackay (AUS), Pamela Blue (ETH), Borema (BRA)
DHs aus Aspen×Arg. Mutante 6519	6	
Nacktgersten	5	Lotos, Lawina, Emperor
Standards (stressanfällig)	4 je Wh	Barke, Aspen

Tabelle 2: Beschreibung der Feldversuche

Table 2: Description of field trials (number of replications and varieties at each site/treatment)

Jahr	ROS		Kontrolle		Frankendorf		Strassmoos		Chemical Desiccation	
	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten	Wh	Sorten
2009	3	78	2	72	2	78	2	78	2	40
2010	3	57	2	57	2	57	2	57	2	40
2011	3	78	2	78	2	78	2	78	2	78

Trockenstress wurde zum Einen unter natürlichen Bedingungen in einem Rain Out Shelter (ROS) simuliert, zum Anderen chemisch induziert. Bei dieser werden die Pflanzen unmittelbar nach dem Ährenschieben mit einer 5%igen Kaliumiodidlösung einmalig besprüht. Als Reaktion auf diese Behandlung schließen die Pflanzen ihre Stomata und nehmen kein weiteres Wasser aus dem Boden auf wodurch ein sogenannter chemischer Trockenstress induziert wird. Als unbehandelte Kontrolle wurde das Sortiment in unmittelbarer Nähe zum ROS (Kontrolle), in Frankendorf und in Strassmoos jeweils in zwei Wiederholungen angebaut. Die Wiederholungen wurden immer komplett randomisiert. In *Tabelle 2* sind die Anbauorte, die jeweiligen Wiederholungen pro Jahr und die Anzahl der Sorten dargestellt.

Die drei Vergleichsstandorte verfügen über unterschiedliche Bodeneigenschaften. Die Kontrolle verfügt über einen Boden, der es ermöglicht ausreichend Wasser zu speichern und zur Verfügung zu stellen. Strassmoos (StM) weist einen leichten, sandigen und sehr steinigen Boden auf. Dieser verfügt über eine schlechte Wasserspeicherkapazität. Frankendorf (FD) liegt im Erdinger Moos. Dieser Standort bietet einen schweren, humosen Boden mit hoher Wasserspeicherkapazität und ausgezeichneter Nährstoffversorgung. Der Boden auf dem das Rain Out Shelter errichtet ist besitzt eine hohe Wasserkapazität und verfügt über einen ausreichenden Nährstoffgehalt.

Rain Out Shelter

Das Rain Out Shelter (ROS, Rollgewächshaus) ist ein Folienrollgewächshaus, das mittels Rollen auf Schienen hin und her bewegt werden kann (*Abbildung 1*). Somit ist es möglich durch Sensoren das Haus bei Regen und starkem Wind über den Bestand zu fahren. Die Sensoren sind so programmiert, dass sich das Haus bei den ersten Regentropfen schließt bzw. über den Bestand fährt. Ebenso schließt sich das Haus bei einer Windgeschwindigkeit von 12m·s⁻¹ die Zeitdauer von 60 s anhalten muss.

Das Rollgewächshaus besitzt ein Eigengewicht von ca. 10 t und wird innerhalb von 180 s über den Bestand gefahren. Die Ausmaße des Hauses betragen 12×32 m.



Abbildung 1: Rollgewächshaus (Rain Out Shelter)
Figure 1: Rain out shelter

Ergebnisse und Diskussion

Die Bodenfeuchte wurde mit Tensiometern gemessen. Diese wurden im ROS und in der unbehandelten Kontrolle nahe dem Rollgewächshaus in den Tiefen von 20, 40, 60, 80 und 100 cm installiert. Gemessen wurde drei Mal wöchentlich während der Vegetationsperiode.

Die Ergebnisse der Tensiometerauswertung sind in *Abbildung 2* dargestellt. Es wird repräsentativ nur die Tiefe von 60 cm dargestellt. Mit dargestellt ist die Bewässerung der Pflanzen zu Beginn der Vegetationsperiode. Tensiometerwerte werden in mbar angegeben. Aufgrund des gemessenen Unterdrucks sind diese Werte negativ. Liegt der Unterdruck zwischen -200 und -500 mbar wird von moderatem Trockenstress gesprochen. Ab einem Unterdruck von -500 mbar leiden Pflanzen unter sehr starkem Trockenstress. Wasser ist ab diesem Wert nur noch in Fein- und Feinstporen des Bodens enthalten und nicht mehr Pflanzenverfügbar. Dar-

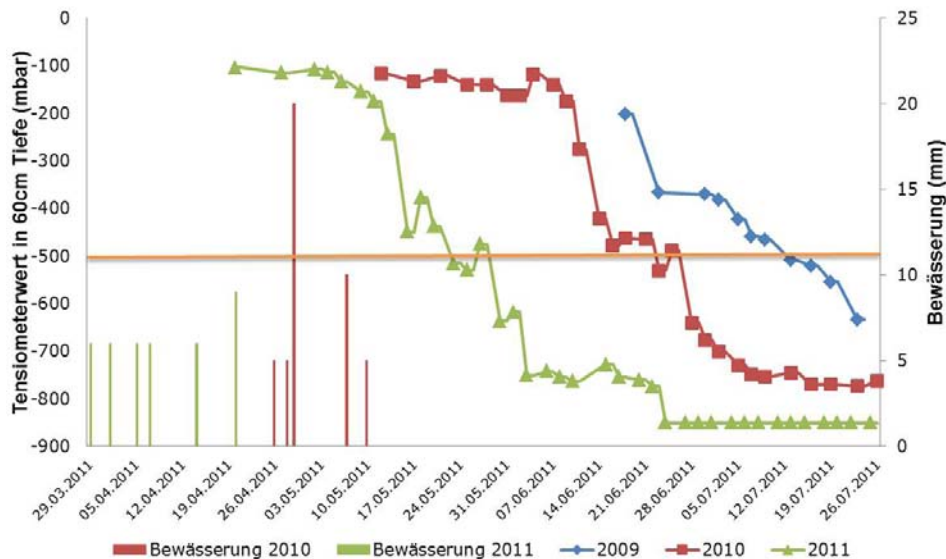


Abbildung 2: Tensiometerwerte in 60 cm Bodentiefe in den Jahren 2009 bis 2011 im ROS und Bewässerung in den einzelnen Jahren
Figure 2: Data of tensiometers in 60 cm soil depth in 2009, 2010 and 2011 in the ROS, and irrigation treatments in the three test years



Abbildung 3: Tensiometerwerte in 60 cm Bodentiefe in den Jahren 2009 bis 2011 in der Kontrolle und Niederschläge während der Vegetationsperiode
Figure 3: Data of tensiometers in 60 cm soil depth in 2009, 2010 and 2011 in the the control environment, and precipitation during the growing period

gestellt ist dieser Wert durch die schwarze Linie in der *Abbildung*. In *Abbildung 2* ist die Verschiebung der Linien in den einzelnen Jahren deutlich zu erkennen. Es gelang jedes Jahr den Trockenstress zu einem früheren Zeitpunkt zu setzen. Ziel war es, zum Ährenschieben starken Trockenstress zu simulieren. Dies ist im Jahr 2009 nicht gelungen, da das Ährenschieben zwischen dem 4. und 20. Juni lag und starker Trockenstress erst ab 19. Juli gegeben war. Im Jahr 2010 gelang es bei einigen Sorten zum Ährenschieben Trockenstress zu erzeugen, da ab 21. Juni von starkem Trockenstress gesprochen werden kann und das Ährenschieben zwischen 9. und 28. Juni lag. Frühe Sorten hatten zum Ährenschieben noch keinen Stress. Dagegen gelang es im Jahr 2011 bei allen Sorten zum Ährenschieben starken Trockenstress zu erzeugen. Der Stresszeitpunkt konnte auf den 25. Mai gelegt werden während das Ährenschieben zwischen dem 23. Mai und dem 13. Juni lag.

Im Vergleich sind in *Abbildung 3* die Tensiometerwerte und Niederschläge in der Kontrolle dargestellt. Es ist deutlich zu erkennen, dass die Pflanzen über die gesamte Vegetationsperiode hinweg ausreichend mit Wasser versorgt waren. Ausgenommen einer ausgeprägten Trockenperiode im Jahr 2010 von Ende Juni bis Mitte Juli. Diese führte in Verbindung mit sehr hohen Temperaturen zu einer rapiden Austrocknung des zuvor mehr als ausreichend mit Wasser gesättigten Bodens.

Die Reaktion der Pflanzen auf die extremen Bedingungen im Jahr 2010 ist in *Abbildung 4* deutlich erkennbar. Abgebildet sind die SPAD Werte (Minolta SPAD-502 Chlorophyllmeter) gemittelt über alle Sorten an den jeweiligen Standorten im Verlauf eines Jahres.

Die Witterungsverhältnisse im Jahr 2010 führten dazu, dass die SPAD-Werte der Kontrolle deutlich niedriger sind als im ROS. Erkennbar ist dies bereits ab Ende Mai. Die starken Regenfälle in diesem Jahr wirken sich ebenso wie eine ausgeprägte Trockenheit auf den Chlorophyllgehalt der Pflanzen aus. Die chemisch behandelten Pflanzen reagieren

unmittelbar nach der Behandlung mit einem deutlichen Chlorophyllabbau. Dies ist auch im Jahr 2011 deutlich zu sehen. In diesem Jahr verhalten sich die Pflanzen der Kontrolle und des ROS erwartungsgemäß. Die Werte im ROS liegen deutlich unter den Werten der unbehandelten Kontrolle. Betrachtet man einzelne Sorten spiegelt sich dieses Bild wieder. Im Jahr 2011 nimmt die Zahl von Sorten zu, deren SPAD-Werte von ROS und chemischem Versuch vergleichbar sind. Dies spräche dafür, dass die *chemical desiccation* durchaus eine plausible Methode ist, um Trockenstress zu simulieren.

Jedoch müssen diese Ergebnisse noch bestätigt werden. Es scheint, als würden der Sorteneinfluss und die Witterung eine ausschlaggebende Rolle spielen. Deutliche Unterschiede zwischen gestressten und nicht gestressten Pflanzen sind auch in *Abbildung 5* zu sehen.

Dargestellt sind die Unterschiede zwischen den Pflanzen im ROS und den Pflanzen in den unbehandelten Kontrollen. Jede Spalte repräsentiert eine Sorte. Blau bedeutet, dass der Wert im ROS ist höher als am jeweiligen Kontrollstandort.



Abbildung 4: SPAD Mittelwerte über alle Sorten im ROS, der Kontrolle und der chemisch gestressten Variante im Verlauf der Vegetationsperiode (dargestellt sind die Jahre 2010 und 2011)

Figure 4: Mean SPAD measurements over all varieties in the ROS, the control and chemical desiccated variant (data are shown for 2010 and 2011)

Tabelle 3: Sorten- und Standortunterschiede an den jeweiligen Standorten bei ausgewählten Merkmalen

Table 3: Differences of environments and varieties with regard to different parameters

Merkmal ¹	Sorte						Sorte×Ort
	σ ² ROS	σ ² FD	σ ² K	σ ² StM	σ ² ChD	σ ²	
ÄS	**	**	**	**	**	**	**
PH	**	**	**	**	**	**	*
TKG	**	*	**	**	**	**	**
SPAD	*	*	**	**	*	n.s.	*
PROT	**	**	**	**	**	**	**

¹ ÄS, Ährenschieben; PH, Wuchshöhe; TKG, 1000 Korngewicht; PROT, Proteingehalt; **, signifikant bei $P < 0.01$; *, $P < 0.05$; n.s., nicht signifikant

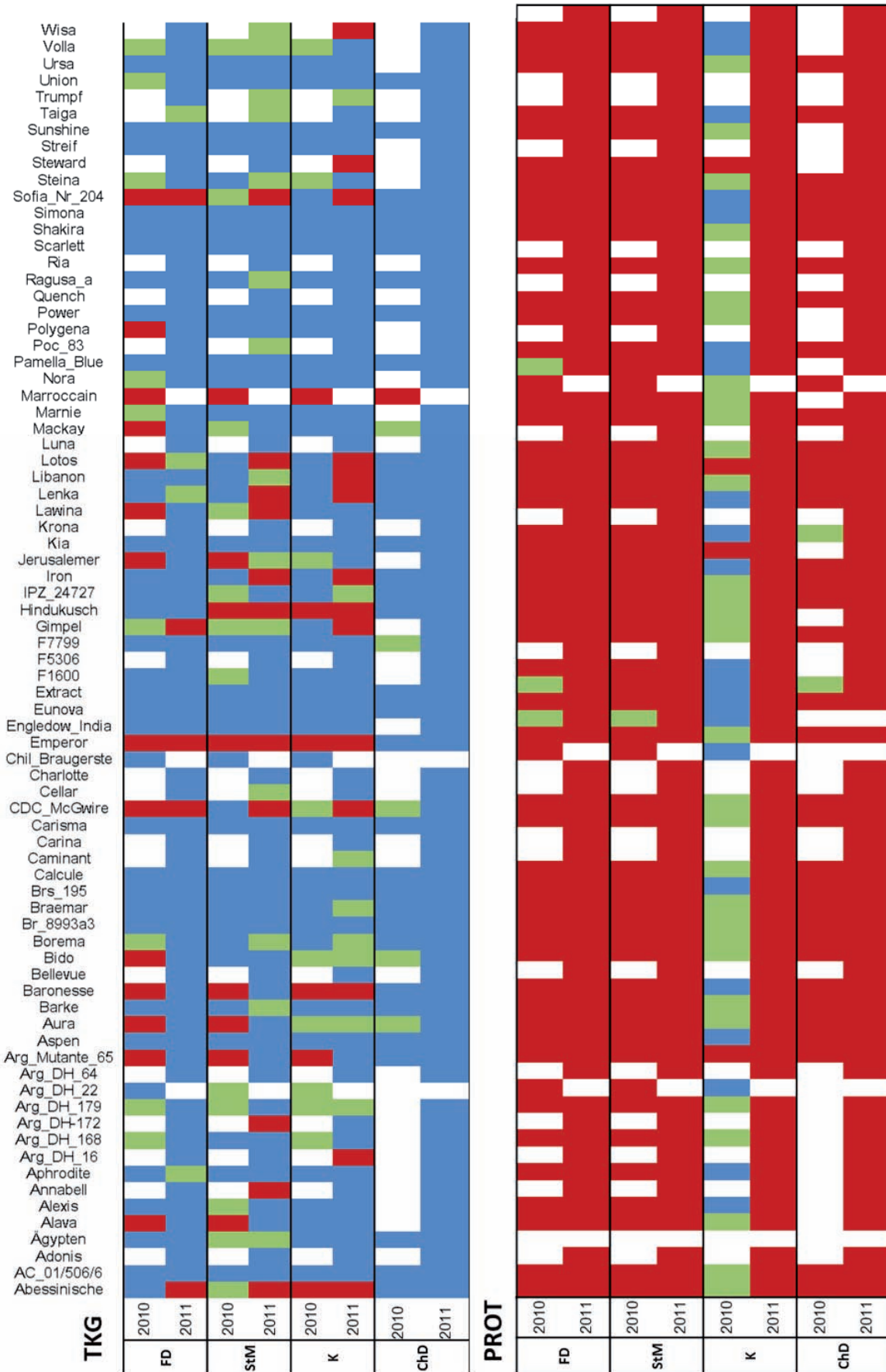


Abbildung 5: Qualitative Unterschiede von Tausendkorngewicht (TKG) und Proteingehalt im Korn (PROT) zwischen den Pflanzen im ROS und den Kontrollstandorten. Jede Spalte repräsentiert eine Sorte; blau: Wert im ROS höher; rot: Wert im ROS niedriger; grün: Werte im ROS gleich.

Figure 5: Qualitative differences of 1000 kernel weight (TKG) and protein content (PROT) between plants in the ROS and control environments. Each column represents one variety; blue: value in ROS higher; red: value in ROS lower; green: value in ROS similar.

Rot bedeutet, der Wert ist niedriger. Grün bedeutet, die Werte sind ähnlich. Es wird deutlich, dass das Tausendkorngewicht im ROS bei nahezu allen dargestellten Sorten höher ist als an den Kontrollstandorten. Im Gegensatz dazu sinken die Proteingehalte unter Trockenstress. Mit Ausnahme der Pflanzen in der Kontrolle 2010. Dies ist wie aus den Tensiometerwerten hervorgeht auf die nachteiligen Witterungsbedingungen zurückzuführen.

Die ersten statistischen Ergebnisse sind in folgender Tabelle aufgeführt. In *Tabelle 3* wird deutlich, dass an allen Standorten signifikante Sortenunterschiede erkennbar sind. Einzig die SPAD-Werte beim chemischen Versuch zeigen keine signifikanten Sortenunterschiede. Alle Sorten reagierten somit in gleicher Weise auf die Behandlung mit Kaliumiodid. Das wird in weiteren Auswertungen noch genauer untersucht.

Schlussfolgerung

Die Ergebnisse dieser Studie sind ermutigend für die weitere statistische Auswertung. Es sind deutliche Unterschiede bei einzelnen Merkmalen zwischen gestressten und nicht gestressten Pflanzen erkennbar. Das Jahr 2010 mit dem aufgetretenem Trockenstress in der Kontrolle stellt eine sehr gute Vergleichsmöglichkeit für den Versuch im Rain Out Shelter dar. Der Stress in dieser Kontrolle wurde nicht kontinuierlich herbeigeführt, sondern trat plötzlich auf. Die Pflanzen im Rollgewächshaus dagegen können sich kontinuierlich an den austrocknenden Boden gewöhnen. Daher vermutlich auch die besseren Werte bei vielen Parametern. Für eine umfassende statistische Auswertung sind ausreichend Daten vorhanden. Diese Daten werden in einer Assoziationsstudie unter Einbeziehung der Daten aus dem Jahr 2012 mit ca.

3500 SNP-Markern verrechnet, um trockenstressrelevante Genomregionen ausfindig zu machen. Um zu einer soliden Bewertung der Anwendbarkeit der einzelnen Messmethoden zu kommen, bedarf es weiterer experimenteller Ergebnisse zur Absicherung der Ergebnisse. Dies wird im Zuge der abschließenden Assoziationsstudie erfolgen.

Danksagung

Diese Studie wurde in enger Zusammenarbeit zwischen den Autoren und Volker Mohler, Günther Schweizer, und der AG Gerstenzüchtung an der Bayerischen Landesanstalt für Landwirtschaft sowie Prof. Urs Schmidhalter, Lehrstuhl für Pflanzenernährung, TUM Wissenschaftszentrum Weihenstephan durchgeführt. Die finanzielle Förderung erfolgte mit Mitteln des Bayerischen Staatsministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten.

Literatur

- RAGHAVENDRA AS, SAGE R, 2011: C₄ photosynthesis and related CO₂ concentrating mechanisms. *Advances in Photosynthesis and Respiration* 32. Springer Science+Business Media BV.
- BRONOLD B, HAVERKAMP S, MAYER-BOSSE A, SCHWARZ H, 2009: SystemAgro: Nachhaltige Ernteversicherung als Antwort auf den Klimawandel. *MUNICH RE Special and Financial Risks SFR Agro*.
- REYNOLDS MP, MUJEEB-KAZI A, SAWKINS M, 2005: Prospects for utilising plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought- and salinity-prone environments. *Ann Appl Biol* 146, 239-259.
- STEUBING L, SCHWANTES HO, 1987: *Ökologische Botanik: Einführung in die angewandte Botanik*. UTB, Stuttgart.

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

Durum in a changing climate - drought stress during growing seasons in Syria

Manuela Nagel^{1*}, Sheeba Navakode¹, Miloudi Nachit²,
Michael Baum², Marion S. Röder¹ and Andreas Börner¹

Abstract

Durum wheat is mainly produced under rainfed but often sub-optimal moisture conditions in the Mediterranean basin. In the current study, a mapping population (drought×salt tolerant cultivar) was developed and the progeny examined for their ability to cope with moisture limiting conditions in Syria in two growing seasons. At the beginning of the second growing season, extreme reduced precipitation resulted in an extension of the days to heading and maturity and lead to a highly significant depletion in plant height, yield, harvest index and thousand grain weight. Quantitative trait loci (QTL) analyses revealed 15 highly significant QTL on chromosomes 1B, 2A, 2B, 3A, 4A, 4B, 5A, 5B, 7A and 7B. For grain yield in total five different QTL were found for the two growing seasons. In contrast, highly significant QTL for plant height (LOD=27) appeared on chromosome 4B in both growing seasons and explained a phenotypic variance up to 65%. Summarising, QTL for drought tolerance under 'natural' appearing moisture limiting conditions could be detected in durum wheat. However, strong interactions between genetic and environmental factors will challenge breeding programmes on drought stress for the future.

Keywords

Grain weight, grain yield, plant height, QTL, recombinant inbred lines, *Triticum durum*

Introduction

Durum wheat (*Triticum turgidum* L. var. *durum*), a tetraploid grass, originated in the Fertile Crescent (an area including Iraq, Iran, Eastern Turkey, Syria, Jordan, Israel, Lebanon and the West Bank) and has been farmed in this region for the last 12 000 years (HABASH et al. 2009). Nowadays, more than 34 million tons are produced globally every year which are 6% of the world wheat production. The cultivation area concentrates mainly in the EU (25%), Middle East (19%), North Africa (11%), Canada (11%), Kazakhstan (8%), USA (7%) and Australia (2%). Compared with bread wheat (*Triticum aestivum* L.) durum wheat has a harder endosperm which produces a granular product after milling. This gra-

nule, called semolina, is the basis ingredient to make pasta, bread, couscous, frekeh and bulgur (CONNELL et al. 2004).

Premium durum wheat quality is cultivated in the Mediterranean basin although environmental constraints as drought and temperature extremes limit the productivity ranging from 0 to 6 t·ha⁻¹ (NACHIT and ELOUAFI 2004, HABASH et al. 2009, CECCARELLI et al. 2010). According to climate models there is a general trend that the Mediterranean basin will become hotter (+3 to +5°C) and drier (-20% precipitation) over the next century. These changes in seasonal precipitation and the occurrence of moisture and temperature stress during different developmental stages will have negative impacts on durum wheat production (HABASH et al. 2009).

Plants react on drought stress with a variety of physiological and biochemical responses which are usually initiated by stomatal closure. This protection mechanism influences CO₂ assimilation by leaves and results in membrane damages and enzyme disorder, especially those of CO₂ fixation. The enhanced metabolite flux through photo-respiratory pathway increases the oxidative load and generates reactive oxygen species which will cause further damages to macromolecules. However, plants are able to withstand drought stress by a range of protection mechanisms including reduced water loss by increased diffusive resistance, enhanced water uptake with prolific and deep root systems and its efficient use. Additional transpirational loss can be avoided by smaller and succulent leaves. Polyamines and several enzymes act as antioxidants and reduce the adverse effects of water deficit. At molecular levels several drought-responsive genes and transcription factors have been identified, such as the dehydration-responsive element-binding gene, aquaporin, late embryogenesis abundant proteins and dehydrins (FA-ROOQ et al. 2009, JALEEL et al. 2009).

By adopting different strategies, as mass screening and breeding and marker-assisted selection, drought stress tolerance in plants can be improved. The current study focuses on the detection of genetic regions which might be responsible for drought tolerance in durum wheat. Therefore the RIL population Omrabi5×Belikh2 was cultivated under moisture limiting conditions in Syria in two growing seasons. Results were quantitatively analysed and gave new insights into genetics of abiotic stress tolerance.

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

² International Center for Agricultural Research in the Dry Areas (ICARDA), PO Box 5466, Aleppo, Syria

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

Material and methods

Plant material

A set of 114 recombinant inbred lines (RILs) from a cross between the durum wheat lines (*Triticum turgidum* L. var. *durum*) ‘Omrabi 5’ (drought tolerant) and ‘Belikh 2’ (salt tolerant) was developed at the International Centre for Agricultural Research in the Dry Area (ICARDA), Syria. The RILs are genotyped with 265 microsatellite markers which have an average marker distance of 10.8 cM and cover the A genome with 1,423 cM (49.6%) and the B genome with 1,441 cM (50.3%).

Phenotyping

RILs were cultivated at the ICARDA experimental fields in Syria in 2007/08 and 2008/09. Phenological data as days to heading, days to maturity, plant height (cm), straw yield, grain yield, total yield (kg-plot⁻¹), harvest index (HI) and thousand grain weight (TGW, g) were collected during the growing seasons.

QTL analysis

The quantitative trait loci (QTL) analysis was carried out by composite interval mapping using the program QTL Cartographer V2.5 (WANG et al. 2011) with model 6 of forward regression. To control the effects of genetic background, five markers were used as cofactors with a window size of 5.0 cM. A LOD (logarithm of odds) score of 3.0 was used for calculating QTL positions and declare significant QTL ($P < 0.001$). The explained phenotypic variance (R^2) and the additive effect for each QTL as well as the position were estimated with QTL cartographer.

Results and discussion

Syria is an arid and semi-arid country with limited water resources. Between 2006 and 2009 Syria experienced a serious drought, the worst in four decades. Generally, for the Mediterranean basin, drought ranks among the most important abiotic stresses. Therefore, breeding has been focused in drought adaptation of crops by improvement of water use efficiency (NACHIT and ELOUAFI 2004, TUBEROSA et al. 2007) using ‘molecularly’ informed breeding approaches as marker-assisted selection based on information of QTL (TUBEROSA and SALVI 2006, TUBEROSA et al. 2007, DIAB et al. 2008)

The current experiments were carried out in two years with reduced precipitation in Syria. Both years differed additionally in the precipitation pattern which influenced significantly plant productivity. Comparing average yields between growing season 2007/08 and 2008/09 the results show strong reductions in grain, straw and total yield including significant effects on HI in growing season 2008/09. Due to the long dry period from previous years and additional 100 consecutive days of no observed precipitation in summer 2008, plants suffered moisture stress and restricted growth after planting in November 2008. This is reflected by the increased days to heading (22 more days) and maturity (37 more days) and results in a reduction of plant height (-10%), grain yield (-45%), HI (11%) and TGW (-14%) (Table 1).

The growth conditions during the two periods were beneficial to find relevant QTL for drought tolerance in durum wheat. In total 15 highly significant QTL were found on 10 chromosomes.

Positive alleles in grain yield, plant height and HI were contributed by the drought tolerant parent ‘Omrabi 5’, whereas positive alleles in days to heading and maturity and TGW came from the salt tolerant parent ‘Belikh 2’ (Table 2). On chromosome 4A and 7B, QTL for grain yield have been already found in comparable regions with seed parameters (seed length, width) and osmotic stress (normal seedlings and root length), respectively (NAGEL et al., unpublished). The most significant QTL, explaining a phenotypic variation up to 65%, is presented for plant height on chromosome 4B. The associated markers are also linked with coleoptile length after osmotic stress (NAGEL et al., unpublished) and are in comparable regions to the reduced height (*Rht*) genes on chromosomes 4B and 4D of the wheat (*Triticum aestivum* L.) genome (BÖRNER et al. 1997). Interestingly, semi-dwarf cultivars carrying *Rht-B1b* or *Rht-D1b* alleles showed reduced stand establishment and lower yield after abiotic stress which is attributed to a reduced initial seed vigour (BOTWRIGHT et al. 2001, REBETZKE et al. 2001). Drought is one of the most complex abiotic stresses and breeding is complicated by the lack of fast, reproducible phenotyping and repeatable water stress conditions (COLLINS et al. 2008, REZA et al. 2009). In the current study a RIL population could be tested under ‘natural’ drought stress condition and resulted in valuable genetic information of quantitative trait yield. The appearance of different QTL in different growing season indicates a strong dependability of environmental factors which will challenge the marker-assisted selection in durum wheat breeding in future.

Table 1: Average performance of 114 RILs at the ICARDA experimental fields in two seasons

Traits	Season 2007/08			Season 2008/09		
	Mean	Min	Max	Mean	Min	Max
Days to heading	96.80	91.00	111.00	128.89	121.05	143.05
Days to maturity	140.11	136.00	156.00	177.09	161.68	199.98
Plant height (cm)	73.91	52.55	100.05	66.39	40.73	91.59
Grain yield (kg-plot ⁻¹)	1.66	0.58	2.81	0.89	0.39	1.66
Straw yield (kg-plot ⁻¹)	3.80	0.88	7.34	2.41	1.17	4.54
Total yield (kg-plot ⁻¹)	5.47	1.46	9.62	3.30	1.65	5.44
HI (%)	30.66	20.60	39.58	27.25	14.41	49.27
TGW (g)	43.67	29.81	61.18	37.39	25.32	53.48

Table 2: Quantitative trait loci (QTL) detected by composite interval mapping of the RIL population Omrabi 5×Belikh 2. A QTL was assigned when LOD was >3 and defined by the chromosome (Chr.), markerloci, position, explained phenotypic variance (R^2) and additive effects. Positive additive effects indicate a contribution by the parent ‘Omrabi 5’, negative additive effects by the parent ‘Belikh2’.

Trait	Season	Chr.	Markerloci	LOD	R^2	Additive effects
Days to Heading	1	2A	<i>Xwmc177</i>	3.68	0.12	1.53
	1	2B	<i>Xwmc597</i>	3.77	0.09	-1.30
	2	2B	<i>Xgwm410</i>	5.18	0.13	-1.99
Days to Maturity	1	5A	<i>Xbarc197</i>	3.13	0.09	-1.29
	1	7A	<i>Xgwm1065</i>	4.99	0.17	-1.83
	2	2A	<i>Xwmc177</i>	4.32	0.11	2.70
	2	5B	<i>Xgwm1016</i>	4.94	0.13	-2.99
Plant Height	1	4B	<i>Xbarc193</i>	27.45	0.65	10.21
	2	4B	<i>Xbarc193</i>	21.36	0.56	9.16
Grain Yield	1	1B	<i>Xgwm752</i>	3.45	0.11	152.86
	1	2B	<i>Xgwm47</i>	3.42	0.11	153.63
	2	3A	<i>Xgwm674</i>	4.03	0.13	94.35
	2	4A	<i>Xgwm160</i>	6.01	0.18	104.30
	2	7B	<i>Xwmc426</i>	3.48	0.12	87.04
Harvest Index	1	2B	<i>Xgwm148</i>	3.49	0.11	1.32
	2	5B	<i>Xbarc4</i>	3.02	0.10	1.53
TGW	1	2A	<i>Xgwm425</i>	3.09	0.09	-1.82

Acknowledgments

We kindly acknowledge Mohamed Azrak, Hani Hazzam, Ahmed Alsaleh and Saer Dawer for the field and lab work and thank GIZ for financial support (Project No. 07.7860.5-001.00).

References

- BÖRNERA, RÖDERM, KORZUN V, 1997: Comparative molecular mapping of GA insensitive *Rht* loci on chromosomes 4B and 4D of common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Theor Appl Genet* 95, 1133-1137.
- BOTWRIGHT TL, REBETZKE GJ, CONDON AG, RICHARDS RA, 2001: Influence of variety, seed position and seed source on screening for coleoptile length in bread wheat (*Triticum aestivum* L.). *Euphytica* 119, 349-356.
- CECCARELLI S, GRANDO S, MAATOUGUI M, MICHAEL M, SLASH M, HAGHPARAST R, RAHMANIAN M, TAHERI A, AL-YASSIN A, BENBELKACEM A, LABDI M, MIMOUN H, NACHIT M, 2010: Plant breeding and climate changes. *J Agric Sci* 148, 627-637.
- COLLINS NC, TARDIEU F, TUBEROSA R, 2008: Quantitative trait loci and crop performance under abiotic stress: where do we stand? *Plant Physiol* 147, 469-486.
- CONNELL P, LAWRENCE L, NELSON R, 2004: Durum wheat - Australia's role in world markets. *Australian Commodities* 11, 319-324.
- DIAB AA, KANTETY RV, OZTURK NZ, BENSCHER D, NACHIT MM, SORRELLS ME, 2008: Drought - inducible genes and differentially expressed sequence tags associated with components of drought tolerance in durum wheat. *Scientific Research and Essays* 3, 9-26.
- FAROOQ M, WAHID A, KOBAYASHI N, 2009: Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agron Sustain Dev* 29, 185-212.
- HABASH DZ, KEHEL Z, NACHIT M, 2009: Genomic approaches for designing durum wheat ready for climate change with a focus on drought. *J Exp Bot* 60, 2805-2815.
- JALEEL CA, MANIVANNAN P, WAHID A, FAROOQ M, AL-JUBURI HJ, SOMASUNDARAM R, PANNEERSELVAM R, 2009: Drought stress in plants: A review on morphological characteristics and pigments composition. *Int J Agric Biol* 11, 100-105.
- NACHIT M, ELOUAFI I, 2004: Durum adaptation in the Mediterranean Dryland: breeding, stress physiology, and molecular markers. *Crop Sci* 32, 203-218.
- REBETZKE GJ, APPELS R, MORRISON AD, RICHARDS RA, MCDONALD G, ELLIS MH, SPIELMEYER W, BONNETT DG, 2001: Quantitative trait loci on chromosome 4B for coleoptile length and early vigour in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Aust J Agric Res* 52, 1221-1234.
- REZA T, FAYAZ F, NAJI AM, 2009: Effective selection criteria for assessing drought stress tolerance in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). *Gen Appl Plant Physiol* 35, 64-74.
- TUBEROSA R, GIULIANI S, PARRY MAJ, ARAUS JL, 2007: Improving water use efficiency in Mediterranean agriculture: what limits the adoption of new technologies? *Ann Appl Biol* 150, 157-162.
- TUBEROSA R, SALVI S, 2006: Genomics-based approaches to improve drought tolerance of crops. *Trend Plant Sci* 11, 405-412.
- WANG S, BASTEN CJ, ZENG Z-B, 2011: Windows QTL Cartographer 2.5, Department of Statistics, North Carolina State University, Raleigh, NC. (<http://statgen.ncsu.edu/qtlcart/WQTLCart.htm>).

Praktische Anwendbarkeit von Trockenstressparametern für die Weizenzüchtung

Practical applicability of drought stress parameters for winter wheat breeding

Clemens Flamm^{1*}, Sabrina Scheriau¹, Elisabeth Zechner², Maren Livaja³ und János Pauk⁴

Abstract

In order to incorporate a drought stress parameter in wheat breeding, this parameter should fulfill following requirements: (i) applicable with little input for a wide assortment, (ii) reproducible over different environments, and (iii) validity for the character drought stress. The measurements of root capacity, stomatal conductance, osmotic potential and flag leaf temperature do not meet the first simple application requirement. The parameters of the 'escape strategy' and chlorophyll content are quickly testable and can be reproduced well in different locations. Leaf rolling, plant height and yield parameters correlate closely over locations. A good correlation between the investigated parameters and yield under drought conditions was found except for leaf rolling and plant height.

Furthermore, it was shown that awns are not responsible for the drought tolerance of a variety. A principle component analysis over all drought stressed locations revealed that a combination of the parameters test weight, plant height and leaf senescence contribute to grain yield losses under drought stress. Further analysis of irrigated and non-irrigated Austrian trials in 2012 obtained two significant principal components which are correlated to yield components determined in the period from heading and flowering to ripening, respectively.

Summarizing, the parameters heading, ripening, grain filling period, leaf senescence and chlorophyll content are most likely suitable to identify drought tolerant genotypes. Leaf rolling and appearance of awns gave little information about drought tolerance. Other tested parameters are too time consuming or difficult to reproduce.

Keywords

Chlorophyll content, drought avoidance, drought tolerance, escape strategy, leaf rolling, reproducibility, *Triticum aestivum*

Einleitung

Trockenstress und dessen Effekt auf die Pflanzen ist weltweit einer der wichtigsten Begrenzungsfaktoren der Maximierung der Weizenproduktion (JONES und CORLETT 1992). Pflanzen reagieren auf Wasserdefizit mit physiologischen, biochemischen und molekularen Veränderungen. Diese Anpassungen unterliegen sehr komplexen und unterschiedlichen Mechanismen (HALL 2001, CHAVES et al. 2003, JONES 2004). LEVITT (1972) entwickelte eine Einteilung der Mechanismen, die nach wie vor Gültigkeit besitzt: (1) Dürrefluht (*escape strategy*), (2) Vermeidung der Austrocknung (*avoidance*) und (3) Toleranz gegenüber dem Austrocknen (*tolerance*).

Die erste Strategie ist durch eine schnellere Pflanzenentwicklung charakterisiert. Durch eine frühere Reife versucht die Pflanze, einer späteren Dürrephase zu entkommen. Das Stadium des Ährenschiebens, die Blüte und Gelbreife werden rascher erreicht. Dies geht einher mit einer höheren Wachstumsrate aber kürzeren Wachstumszeit und einem höheren Gasaustausch, wodurch die Blattseneszenz früher erfolgt.

Die Austrocknung kann einerseits durch Senkung des Wasserverbrauches vermieden werden. Dies ist durch Reduktion der Transpirationsrate, einer dickeren Wachsschicht, einer Verringerung der Blattoberfläche (SALIH et al. 1999) sowie durch Reduktion der stomatären Leitfähigkeit (LUDLOW und MUCHOW 1990, RAY und SINCLAIR 1997) möglich. Andererseits ist auch eine verbesserte Wassernutzung erfolgreich. Dies wird beispielsweise durch höheres Wurzelwachstum erreicht (SALIH et al. 1999).

Eine weitere Reaktion ist die Austrocknungstoleranz. Pflanzen können lang anhaltende Perioden von Trockenstress mittels osmotischer Anpassung besser überdauern. Dabei wird der Turgor in den Zellen möglichst lange aufrechterhalten. Die Pflanzen werden zwar gestresst, behalten aber noch eine gewisse Produktivität.

Für alle beschriebenen Mechanismen und Strategien gibt es Möglichkeiten, diese zu messen oder zu schätzen. In

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

² Saatzucht Edelfhof, Edelfhof 1, A-3910 ZWETTL

³ Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Emil Ramann Straße 4, D-85354 FREISING

⁴ Cereal Research Non-Profit Company, Department of Biotechnology, P.O. Box 391, H-6701 SZEGED

* Ansprechpartner: Clemens FLAMM, clemens.flamm@ages.at

der folgenden Arbeit soll die praktische Durchführbarkeit ausgewählter Methoden sowie deren Aussagekraft bezüglich Trockenstress aufgezeigt werden.

Material und Methoden

Es wurden Versuche der Jahre 2010-2012 aus den Cornet-Projekten *Wheat Stress* und *Efficient Wheat* analysiert. Die Versuche lagen in Deutschland, Österreich und Ungarn. An drei Standorten wurden die Versuche in einer beregneten und einer unberegneten Variante ausgeführt. Aufgrund der natürlichen Regenverteilung wurden die Versuche in trocken und feucht eingeteilt (Tabelle 1).

Im Jahr 2010 erhielten die beregneten Versuche 40-58 mm zusätzliches Wasser (Österreich) bzw. 10 mm (Ungarn); 2011 wurden 80-90 mm (Österreich) bzw. 44 mm (Ungarn) sowie 2012 60-80 mm in Österreich beregnet. Die einbezogenen Sorten wurden von deutschen, österreichischen und ungarischen Züchtern ausgewählt und zeigten eine große Variabilität hinsichtlich Wuchshöhe, Abreife und Qualitätseigenschaften.

Das Testsortiment wurde entsprechend der Österreichischen Beschreibenden Sortenliste (AGES 2013) bzw. dem österreichischen Backqualitätsschema 1994 (OBERFORSTER et al. 1994) in drei Backqualitätsgruppen (Qualitätsweizen, Mahlweizen und Futterweizen) eingeteilt. Die Sorten 'Bitop', 'Capo', 'Element', 'Exklusiv', 'Komarom', 'Midas', 'GK Békés', 'GK Kalász' und 'GK Petur' wurden den Qualitätsweizen zugeordnet. Die Sorten 'Eurofit', 'Eurojet', 'Tacitus', 'Brilliant', 'Hybred', 'JB Asano', 'Pegassos', 'Premio', 'Tiger', 'GK Fény', 'GK Hunyad', 'GK Rába' und 'GK Szala' entsprechen der Mahlweizengruppe. Bei den Sorten 'Hyland' und 'Robigus' handelt es sich um Futterweizen.

Die Versuche wurden als Gitteranlagen mit drei Wiederholungen angebaut. Die Düngung erfolgte ortsüblich. Folgende Merkmale wurden erhoben: Kornertrag (KOEQ, dt·ha⁻¹), Datum Ährenschieben, Blüte und Gelbreife (DTAE, DTBL, DTGR; Tage nach 31. Dezember), Tage zwischen diesen Stadien (GRAE (Einkörnungsdauer), GRBL und BLAE), Fahnenblattseneszenz (SZF1-3; Schätzung in % zu 3 Terminen), Wuchshöhe (WHOE, cm), Bestandesdichte (BEST, Ähren·m⁻²), Tausendkorngewicht (TKG, g bei 86% TS), Kornzahl pro Ähre (KZAE), Kornzahl pro m² (KZM2), Ährgewicht (AEGW, g) und Hektolitergewicht (HLGW, kg). Weiters wurden das Blattrollen (BLRO, Schätzung, %), die elektrische Leitfähigkeit der Wurzeln (EKA, mittels 3 Escort ELC 133A LCR meter, nF), das osmotische Potenzial (OSP, Osmometer Vapro 5520, MPa), die Oberflächentemperatur des Fahnenblattes (OTEM, Infrarot Thermometer, Scan Temp 490 Dostmann Electronic GmbH, °C), der

Chlorophyllgehalt des Fahnenblattes (SPD1-3, SPAD-502 Konica Minolta, SPAD-Einheiten zu 3 Terminen) und die Leitfähigkeit der Spaltöffnungen (STO2-3; Leaf Porometer, Decagon Devices, mmol·m⁻²·s⁻¹ zu 2 Terminen) erhoben.

Die statistische Verrechnung erfolgte mit SPSS. In die Varianzanalyse wurden die Versuche 2010-2011 einbezogen, da von 2012 nur die Daten der österreichischen Prüfungen vorlagen. Die weiterführenden Analysen wurden mit der Statistiksoftware R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2012) durchgeführt. Hierfür wurden nur mehr die trocken-gestressten Versuche verwendet bzw. jene Standorte, an denen beide Varianten vorkamen (beregnet und unberegnet) und bei denen es Unterschiede zwischen diesen Varianten gab (Tat und NWe).

Aufgrund der Vielzahl der zu untersuchenden Parameter wurde neben der Varianzanalyse eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt. Mittels Hauptkomponentenanalyse sollen Korrelationen in diesen erhobenen Parametern erkannt werden, um somit diese Parameter ohne Informationsverlust auf wenige Hauptkomponenten reduzieren zu können. Die erhaltenen Hauptkomponenten ergeben sich als Linearkombinationen der ursprünglichen Parameter (TABACHNICK und FIDELL 2007).

In weiterer Folge lässt sich der Einfluss der Hauptkomponenten auf den Trockenstress modellieren. Dazu wurden gemischte lineare Modelle berechnet. In linearen gemischten Modellen werden die fixen Effekte (die bereits im klassischen linearen Regressionsmodell herangezogen werden) um sogenannte zufällige Effekte erweitert. Die fixen Effekte beschreiben den Einfluss von Prädiktorvariablen auf eine Zielvariable für die Gesamtpopulation. Mit zufälligen Effekten soll ein gegebenenfalls abweichendes Verhalten von bestimmten Clustern abgebildet werden (WEST et al. 2007). In den vorliegenden Analysen wurden die Cluster Sorte, Jahr und Ort als zufällige Effekte modelliert. Eine wichtige Information zu zufälligen Effekten liefert deren Varianzkomponente. Mit dieser kann ermittelt werden, welcher Anteil der Gesamtvarianz der Daten auf den jeweiligen Cluster (zufälligen Effekt) entfällt. Je größer der Anteil, desto größer ist die clusterspezifische Variation.

Ergebnisse und Diskussion

Praktische Durchführbarkeit

Parameter der „Dürreflucht“ (Ährenschieben, Gelbreife, Einkörnung, Blattseneszenz) sind einfach festzustellen und relativ rasch zu erheben. In ähnlicher Weise gehen die Parameter zur Vermeidung des Austrocknens wie das Blattrollen und die Begrannung.

Tabelle 1: Versuchsstandorte in Deutschland, Österreich und Ungarn (2010-2012)

Table 1: Test locations in Austria, Germany and Hungary (2010-2012)

Klima	2010	2011	2012
Feucht	Fel ¹ , Rog, Sel, Söl, Uff, Bre (u,b), Tat (b), StA, Kis, Sze (u,b)	Fel, Rog, Sel, Söl, Bre (b), Tat (b), Sze (b)	NWe (b), Tat (b)
Trocken	Mor, Tat (u)	Die, Mor, Uff, Brei (u), Tat (u), StA	NWe (u), Tat (u), StA

¹b, beregnet; u, unberegnet; Die, Dietersheim (Oberbayern); Fel, Feldkirchen (Oberbayern); Mor, Morgenrot (Sachsen-Anhalt); Sel, Seligenstadt (Franken); Söl, Söllingen (Niedersachsen); Rog, Roggenstein (Oberbayern); Uff, Uffenheim (Franken); Bre, Breitstetten (NÖ, Marchfeld); NWe, Niederweiden (NÖ, Marchfeld); Tat, Tattendorf (NÖ, Steinfeld); StA, St. Andrä am Zicksee (Burgenland, Seewinkel); Kis, Kiszombor (Südungarn); Sze, Szeged (Südungarn)

Der Einsatz des Leaf Porometers erfordert hingegen hohen Aufwand während eines kurzen Zeitfensters (zwischen 11 und 15 Uhr bei wolkenlosem Himmel), da stets nur einzelne Blätter gemessen werden können. Nach Anzeige des ersten Messwertes, muss die Zange, in der das Blatt eingespannt war, getrocknet werden. Pro Parzelle werden mehrere Blättern gemessen.

Der Wurzeltiefgang und die Intensität des Wurzelsystems werden mit der elektrischen Leitfähigkeit erhoben. Die Messung selbst erzielt rasch ein Ergebnis, man stößt jedoch bei skelettreichen Böden bald an Grenzen. Bei geringer Bodenfeuchte lässt sich der Sensor nicht leicht in den Boden einstecken. An tau- oder regennassen Beständen ist eine Messung nicht möglich.

Über die Austrocknungstoleranz gibt das Osmometer Auskunft. Dazu werden Blätter bis zur völligen Aufsättigung in destilliertem Wasser eingelegt. Nach oberflächlicher Trocknung werden die Proben gefroren, bis sie zu einem

späteren Zeitpunkt gepresst werden um den Zellsaft für die Analyse im Osmometer zu gewinnen.

Die Messung der Oberflächentemperatur des Blattes setzt eine gleichbleibende Sonneneinstrahlung und möglichst geringe Windgeschwindigkeit voraus. Das heißt, ein umfangreiches Sortiment unter freiem Himmel zu messen, ist unmöglich, da beispielsweise in pannonischen Regionen meist ein Wind weht und wolkenlose Atmosphäre um die Mittagsstunden im Jahr 2010 eine Seltenheit war. Die gewonnenen Daten sind oftmals mit hohen Versuchsfehlern behaftet. Deshalb wurde dieses Merkmal im Jahr 2011 nicht mehr gemessen. Die Methode erscheint für Gewächshausversuche eher geeignet. FRIEDLHUBER et al. (2011) fand hingegen an einem kleineren Sortiment und mittels Wärmebildkamera signifikante Unterschiede zwischen den Sorten. Von den Messparametern ist der Chlorophyllgehalt des Fahnenblattes am raschesten und einfachsten zu realisieren. Ähnliche Ergebnisse erzielte auch TEIZER (2010).

Tabelle 2: Deskriptive Statistik und Varianzanalyse der Parameter Kornertrag (KOEQ), Ährenschieben (DTAE), Gelbreife (DTGR), Einkörnungsdauer (GRAE), Blattseneszenz (SZF), Wuchshöhe (WHOE) und Bestandesdichte (BEST) über alle Umwelten (2010-2011)

Table 2: Descriptiv statistics and ANOVA of the parameters yield (KOEQ), heading (DTAE), ripening (DTGR), grain filling period (GRAE), leaf senescence (SZF), plant height (WHOE) and ears per square meter (BEST) over all environments (2010-2011)

	KOEQ	DTAE	DTGR	GRAE	SZF1	SZF2	SZF3	WHOE	BEST
N	14	14	14	14	10	10	10	14	10
Min	19,2	129	168	29	0	0	2	44	211
Max	137,4	163	210	62	100	100	100	127	1030
Mittel	66,9	146	188	42	20	58	84	85	451
Jahr (J)	158,97**	28732,84**	12929,27**	645,84**	2,01	39,28**	19,66**	2323,57**	61,26**
Geotyp (G)	62,60**	953,89**	176,57**	95,36**	20,87**	44,91**	32,22**	318,07**	7,31**
Umwelt (U)	823,50**	3579,78**	4042,08**	1782,23**	100,38*	180,19**	130,96**	984,61**	168,22**
J×G	2,70**	15,208**	14,54**	20,83**	1,38	2,53**	1,49	4,35**	0,89
J×U	148,01**	1752,27**	816,77**	1130,73**	52,28**	78,75**	70,20*	253,61**	93,67
G×U	3,07**	7,401**	4,57**	5,02**	2,29**	1,69**	2,74**	2,20**	1,38**
J×G×U	1,68**	4,63	3,29**	4,07**	1,17	1,73**	1,59**	1,58**	1,22
Fehler	50,17	0,80	1,41	1,76	195,99	305,38	150,52	18,66	3587,71

Tabelle 3: Deskriptive Statistik und Varianzanalyse von Chlorophyllgehalt (SPD), Wurzelkapazität (EKA), Stomataleitfähigkeit (STO), osmotisches Potenzial (OSP) und Blatttemperatur (OTEM) über alle Umwelten (2010-2011)

Table 3: Descriptive statistics and ANOVA of the chlorophyll content (SPD), root capacity (EKA), stomatal conductance (STO), osmotic potential (OSP) and leaf temperature (OTEM) over all environments (2010-2011)

	SPD1	SPD2	EKA	STO2	STO3	OSP	OTEM
N	12	7	5	4	2	4	2
Min	17,27	4,80	0,17	21,85	22,18	1,02	8,40
Max	65,49	61,37	1237,01	608,46	266,28	57,78	32,50
Mittel	48,29	45,84	124,80	292,67	100,64	11,82	20,63
Jahr (J)	1912,06**	2631,16**	448,94**	845,90**	-	52423,91**	-
Geotyp (G)	96,60**	42,49**	0,97	4,27**	-	0,99	2,83**
Umwelt (U)	144,82**	366,63**	0,08	138,12**	9,83**	45,46**	60,42**
J×G	7,25**	7,26**	3,04**	1,09	-	1,20	-
J×U	249,40**	185,00**	-	7,20**	-	-	-
G×U	3,25**	3,61**	0,51	1,28	-	0,93	2,83**
J×G×U	3,81**	1,89**	-	0,90	-	-	-
Fehler	6,59	18,14	24342,96	5048,14	978,11	0,01	9,18

Tabelle 4: Intervarietale Korrelation der Parameter an den Standorten mit Trockenstress (2010-2012)

Table 4: Intergroup correlation of investigated parameters at the locations with drought stress (2010-2012)

Parameter	Korrelationskoeffizienten		
Ertrag und Ertragsstruktur			
Kornertrag	-0,090	bis 0,777**	
1000-Korngewicht	0,400 *	bis 0,903**	1
Bestandesdichte	-0,305	bis 0,588**	
Kornzahl pro Ähre	-0,050	bis 0,777**	1
Kornzahl pro m ²	0,234	bis 0,830**	1
Ährengewicht	-0,263	bis 0,610**	2
Parameter der Dürreflucht			
Ährenschieben	0,825 **	bis 0,976**	1
Blüte	0,689 **	bis 0,971**	1
Gelbreife	0,404 *	bis 0,889**	1
Einkörnungsdauer	-0,229	bis 0,773**	2
Fahnenblattseneszenz 1	-0,134	bis 0,831**	1
Fahnenblattseneszenz 2	0,252	bis 0,932**	1
Fahnenblattseneszenz 3	0,200	bis 0,978**	1
Parameter zur Vermeidung von Austrocknung			
Blattrollen	0,443 *	bis 0,771*	1
Wuchshöhe	0,681 **	bis 0,941**	1
Stomatäre Leitfähigkeit	0,036	bis 0,233	
Elektrische Wurzelkapazität	-0,091	bis 0,630**	
Parameter der Austrocknungstoleranz			
Chlorophyllgehalt im Blatt 1	0,053	bis 0,912**	1
Chlorophyllgehalt im Blatt 2	0,050	bis 0,822**	1
Chlorophyllgehalt im Blatt 3	0,026	bis 0,821**	
Oberflächentemperatur		0,002	
Osmotisches Potenzial	-0,424 *	bis 0,689**	

1 = Korrelation $\geq 70\%$; 2 = Korrelation 50-69% der Standorte

Varianzanalyse

In der Varianzanalyse über alle Standorte (Tabelle 2, Tabelle 3) zeigten sich bei den einzelnen Parametern meist hoch signifikante Jahres- (J), Genotyp- (G) und Umwelteffekte (U). Auch die Wechselwirkungen J×G, G×U, J×U und J×G×U waren in den meisten Fällen statistisch signifikant. Bei den Merkmalen KOEQ, DTAE, DTGR und GRAE hatten das Jahr, die Umwelt und deren Wechselwirkung den größten Einfluss. Bei der Fahnenblattseneszenz hatte das Jahr von den Hauptfaktoren den geringsten, die Umwelt den höchsten Einfluss auf die Gesamtvarianz. G×U war zu allen drei Terminen hoch signifikant. Bei WHOE waren sämtliche Faktoren und Wechselwirkungen hoch signifikant. Hingegen zeigte BEST nur Signifikanzen in den Hauptfaktoren und in der Wechselwirkung G×U. Die Fehlervarianz war dabei relativ hoch. Beim Chlorophyllgehalt zeigten sich wie beim Kornertrag hohe Jahres- und Umwelteinflüsse. Die Parameter EKA und OSP wiesen jeweils sehr hohe Fehlerwerte auf. Bei OSP war das Jahr die entscheidende Einflussgröße; die Aussagen zu OTEM sind durch den geringen Datenumfang beeinträchtigt.

Reproduzierbarkeit der Parameter

Um Aussagen über die praktische Verwendbarkeit der einzelnen Parameter in der Züchtung tätigen zu können, ist die Reproduzierbarkeit der Parameter über die Umwelten bedeutsam. Dazu wurde jedes Merkmal über die Standorte intervarietale korreliert. In Tabelle 4 ist die Variation der Kor-

relationskoeffizienten der einzelnen Parameter dargestellt. Die mit „1“ gekennzeichneten Parameter zeigten eine Korrelation ab 70% der Standorte; jene mit „2“ gekennzeichneten von 50-69% der Standorte. Der Kornertrag zeigte bei 46% der Standorte eine Signifikanz. Mit Ausnahme von BEST waren die Ertragskomponenten über die Umwelten gut bis sehr gut reproduzierbar. Die höchste Übereinstimmung wurde bei TKG erzielt. Die „Dürreflucht“-Parameter korrelierten ebenfalls gut bis sehr gut über die Umwelten. Bei den Merkmalen DTAE und DTBL wurde sogar in 100% der Fälle eine hochsignifikante Übereinstimmung gefunden. Auch SZF1-3 wiederholten sich oft an anderen Standorten. Lediglich GRAE variierte in größerem Ausmaß.

Bei den Parametern die mit der Vermeidung der Austrocknung assoziiert sind korrelierten BLRO und die WHOE intervarietale sehr stark über die verschiedenen Orte hinweg; STO2-3 und EKA hingegen gar nicht bis sehr selten.

Bei der Austrocknungstoleranz zeigte der Chlorophyllgehalt je nach Entwicklungsstadium eine hohe bis mittlere Übereinstimmung. Die frühesten Messungen (BBCH 43-59) und die mittleren Messungen (BBCH 60-71) korrelierten in 71 bzw. 70% der Fälle. Bei einer späteren Messung wurde eine Übereinstimmung noch in 40% der Standorte erzielt. Bei OSP war die Übereinstimmung nur zufallsbedingt.

Kornertrag unter Trockenstress

Korrelationen zwischen KOEQ unter Trockenbedingungen und den einzelnen Parametern waren signifikant bei folgenden Merkmalen: KZAE ($r=0,62^{**}$), KZM2 ($r=0,67^{**}$), AEGW ($r=0,62^{**}$), Entwicklungsstadien ($r=0,48^*$ bis $0,51^*$), SZF1-3 ($r=-0,47^*$ bis $-0,64^{**}$), SPD1-3 ($r=0,44^*$ bis $0,66^{**}$) und OSP ($r=0,67^{**}$). Bei allen übrigen Parametern konnten keine Zusammenhänge zu KOEQ festgestellt werden.

Um auch komplexere Verbindungen zu erhalten, wurde in einem gemischten linearen Modell geprüft, ob die Herkunft, die Backqualität oder die Begrannung einen Einfluss auf KOEQ bei trockengestressten Versuchen haben. Es zeigte sich, dass die Herkunft einen signifikanten Einfluss auf KOEQ hatte. Um Schwankungen von Ort und Jahr abzufangen, wurden diese Faktoren als zufällige Effekte ins Modell aufgenommen. Die Begrannung hatte keinen signifikanten Einfluss. Die Backqualität lieferte lediglich eine Mehrinformation, wenn die Begrannung im Modell berücksichtigt wurde. RICHARDS et al. (2002) schlug eine Selektion auf Grannen zur Erhaltung der photosynthetischen Aktivität und Verbesserung der Transpirationseffizienz vor.

Tabelle 5: Hauptkomponenten und zugrundeliegende (ursprüngliche) Parameter zur Modellierung des Kornertrages unter Trockenbedingungen (2010-2012)

Table 5: Principal components and underlying parameters for the modeling of yield under drought stress (2010-2012)

Hauptkomponente	Parameter
PC1	DTGR, GRAE, GRBL, DTBL, DTAE
PC2	DTAE, DTBL, GRBL
PC3	HLGW, WHOE, SZF1
PC4	BLAE, BEST, WHOE

Neben diesen kategoriellen Variablen sollte auch der Einfluss der übrigen Parameter auf KOEQ untersucht werden. Es wurden jene Merkmale in das Modell einbezogen, bei denen mindestens 240 (von 290) Beobachtungen vorhanden waren. Dies traf auf DTAE, DTBL, DTGR, BLAE, GRBL, GRAE, WHOE, TKG, HLGW, BEST und SZF1 zu. Mittels Hauptkomponentenanalyse (PCA) wurden diese 11 Parameter auf 4 Hauptkomponenten (PCs) reduziert. Jeder der vier gewonnenen PCs wurde aus den elf ursprünglichen Merkmalen berechnet. Welche von diesen den größten Teil zur jeweiligen Hauptkomponente beitrugen, kann *Tabelle 5* entnommen werden.

In einem weiteren linearen gemischten Modell wurde der Einfluss der errechneten Hauptkomponenten untersucht. Herkunft, Sorte, Ort und Jahr wurden durch entsprechende fixe bzw. zufällige Effekte berücksichtigt. Es zeigte sich, dass nur Hauptkomponente 3 einen signifikanten Einfluss auf KOEQ ausübt. Aus diesen Ergebnissen kann geschlossen werden, dass die lineare Kombination der Parameter HLGW, WHOE und SZF1 zu einer Erhöhung des absoluten Kornertrages unter Trockenstress beiträgt.

Bei allen übrigen Parametern, bei denen eine Hauptkomponentenanalyse aufgrund von vielen fehlenden Werten nicht sinnvoll war, wurde der Einfluss eines Parameters ohne Berücksichtigung der anderen Parameter mittels Modellierung untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Parameter SPD1, SPD2, STO2, OSP2 und SZF2 einen signifikanten Einfluss auf KOEQ haben. Wobei das Ergebnis für STO2 aufgrund der sehr geringen Anzahl an Beobachtungen mit großer Unsicherheit behaftet bleibt.

Kornertragsdifferenz als Maß der Trockentoleranz

Neben dem absoluten Kornertrag ist der Ertragsverlust unter Trockenstress im Vergleich zu einer ausreichenden Wasserversorgung ein weiteres Indiz für Trockentoleranz. Dazu wurden österreichische Versuche ausgewählt, bei denen beide Varianten vorkamen und Trockenstress während der Vegetationsperiode auftrat. In Tattendorf 2010 litten die Genotypen erst sehr spät unter Trockenstress, wodurch auch teilweise nicht absicherbare Mehrerträge auftraten. In *Abbildung 1* sind die genotypisch bedingten Kornertragsdifferenzen an den Standorten dargestellt.

Innerhalb der Qualitätsweizen sind die Sorten 'Exklusiv', 'Bitop' und 'GK Kalász' den Sorten 'GK Petur' und 'Capo' überlegen. Bei den Mahlweizen erwiesen sich 'GK Hunyad', 'Premio' und 'Brilliant' trockenresistanter als 'Eurojet', 'Hybrid' und 'JB Asano'. Zur statistischen Verrechnung wurden zwei Fälle untersucht: (1) Tattendorf 2010-2012 und (2) Tattendorf und Niederweiden 2012. Aus den Werten der Versuche Tattendorf 2010 bis 2012 konnte mit 13 Parametern eine Hauptkomponentenanalyse durchgeführt werden. Diese wurden auf vier Hauptkomponenten reduziert (*Tabelle 6*).

Mittels Modellierung wurde der Einfluss der Parameter auf KOEQ untersucht. Im Modell wurde der Faktor Beregnung berücksichtigt. Unberegnung wurde als Referenz gewählt. Das heißt, die Konstante (*intercept*) gibt das Grundniveau für einen unberegneten Versuch einer Qualitätsweizensorte aus Österreich an. *Tabelle 7* zeigt, dass PC1

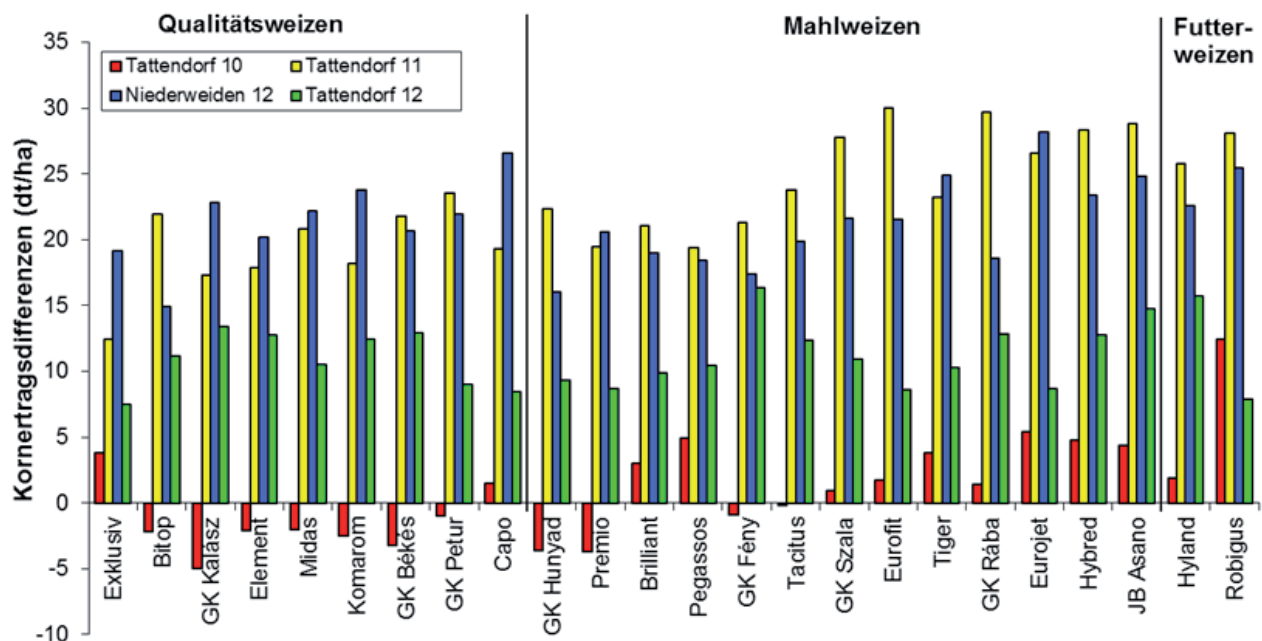


Abbildung 1: Kornertragsdifferenz zwischen beregneten und nicht beregneten Versuchen (2010-2012, gereiht nach steigender Differenz)

Figure 1: Yield difference between irrigated and non-irrigated trials (2010-2012, ordered by increasing difference)

Tabelle 6: Hauptkomponenten und ursprüngliche Parameter zur Modellierung des Kornertrages unter Trockenbedingungen (Tattendorf 2010-2012)

Table 6: Principal components and underlying parameters for the modeling of the yield under drought stress (Tattendorf 2010-2012)

Hauptkomponente	Parameter
PC1	DTGR, DTAE, DTBL
PC2	BLAE, SZF1, SZF2, SZF3
PC3	HLGW, GRBL, TKG
PC4	GRAE

Tabelle 7: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für den Kornertrag am Standort Tattendorf (2010-2012) mit den gewonnenen Hauptkomponenten als Prädiktoren

Table 7: Coefficients and variance components of the linear mixed model for grain yield at the location Tattendorf (2010-2012) with extracted principal components as covariates

	Parameter
Intercept	47,18
PC1	-189,23
PC2	48,64
PC3	5,53
PC4	129,61
Feucht	-1,31
Herkunft	
DE ¹	-0,85
HU	-1,63
Qualität	
MW	1,31
FW	-5,83
Varianzkomponenten	
Sorte	7,51
Jahr	6,04
Fehler	4,63

¹ DE, Deutschland; HU, Ungarn; MW, Mahlweizen; FW, Futterweizen

Tabelle 8: Hauptkomponenten und ursprüngliche Parameter zur Modellierung des Kornertrages unter Trockenbedingungen (Tattendorf und Niederweiden 2012)

Table 8: Principal components and the underlying Parameters for the modeling of the yield under drought stress (Tattendorf and Niederweiden 2012)

Hauptkomponente	Parameter
PC1	DTGR, SZF2, SZF3, DTBL, DTAE
PC2	KZM2, AEGW, BEST, SPD2
PC3	GRBL, GRAE
PC4	KZAE, TKG, HLGW

zu einer Verringerung des erwarteten Kornertrages beiträgt, während die PC2-4 eine Erhöhung mit sich bringen. Da aber bei PC1 die ursprünglichen Parameter negativ eingehen, verringert sich durch deren Erhöhung die Hauptkomponente. Wenn sich die Kombination von DTGR, DTAE und DTBL erhöht, steigt KOEQ unter Trockenbedingungen.

Die weiteren in *Tabelle 6* genannten ursprünglichen Parameter gehen positiv bei der Bildung der entsprechenden Hauptkomponenten ein. Da PC2-4 auch positiv sind, steigt

Tabelle 9: Ergebnisse des linearen gemischten Modells für den Kornertrag an den Standorten Tattendorf und Niederweiden 2012 mit den gewonnenen Hauptkomponenten als Prädiktoren

Table 9: Coefficients and variance components of the linear mixed model for grain yield at Tattendorf and Niederweiden 2012 with extracted principal components as covariates

	Parameter
Intercept	43,55
PC1	n.s.
PC2	-25,60
PC3	16,72
PC4	n.s.
Feucht	5,43
Herkunft	
DE ¹	-0,96
HU	-0,23
Qualität	
MW	1,93
FW	-1,51
Varianzkomponenten	
Sorte	3,53
Jahr	184,84
Fehler	4,40

¹ DE, Deutschland; HU, Ungarn; MW, Mahlweizen; FW, Futterweizen

der erwartete KOEQ bei Erhöhung der entsprechenden ursprünglichen Parameter. Durch Einbeziehung des erst zur Ernte trockenen Jahres 2010 in das Modell verringert sich der erwartete KOEQ unter Feuchtbedingungen.

Führt man die Hauptkomponentenanalyse für die Standorte Tattendorf und Niederweiden 2012 durch, ergeben sich neue Hauptkomponenten (*Tabelle 8*).

Auch hier konnten die Parameter auf 4 Hauptkomponenten reduziert werden. Die Ergebnisse der Modellierung, bei der sich PC 2 und PC 3 als signifikant herausstellten, sind der *Tabelle 9* zu entnehmen. KZM2, AEGW und BEST gehen negativ in das Modell ein, SPD2 hingegen positiv. Das heißt, eine Erhöhung der Ertragsparameter bewirkt einen höheren Ertrag, ein Anstieg der SPAD-Werte hingegen verringert diesen unter Trockenbedingungen. In *Tabelle 9* ist auch ersichtlich, dass der erwartete Kornertrag für Versuche mit ausreichender Wasserversorgung deutlich höher ist, als für trockene Standorte.

Schlussfolgerung

Um einen Trockenstressparameter in der Züchtung realisieren zu können, muss dieser mit geringem Aufwand erfolgreich einsetzbar sein, über die Umwelten gut reproduzierbar und eine Aussagekraft für das Problem Trockenstress besitzen. Die Messungen von EKA, STO, OSP und OTEM erfüllen die Forderung der einfachen Einsetzbarkeit nicht. Die Parameter der „Dürrefluht“ sowie die Chlorophyllmessungen sind rasch durchführbar und können gut über die verschiedenen Umwelten reproduziert werden. BLRO, WHOE und die Ertragsstruktur korrelierten mehrheitlich gut an unterschiedlichen Standorten. Mit Ausnahme von BLRO und WHOE konnte bei diesen Parametern ein Zusammenhang zu KOEQ unter Trockenbedingungen gefunden werden. Weiters wurde aufgezeigt, dass die

Begrannung keine höhere Trockentoleranz einer Sorte bewirkt. Eine Hauptkomponentenanalyse über Standorte mit Trockenstress zeigte, dass die Kombination der Parameter HLGW, WHOE und SZF zu einer Erhöhung des KOEQ beitragen. Eine Hauptkomponentenanalyse der berechneten und trockengetesteten österreichischen Versuche 2012 erzielte zwei signifikante Hauptkomponenten, die aus den Ertragskomponenten und GRAE bestehen.

Zusammenfassend erscheinen die Parameter DTAE, DTGR, GRAE, SZF und SPD am ehesten geeignet trockenolerante Genotypen zu identifizieren. BLRO und die Begrannung brachten in diesen Versuchen wenig Aussage über Trockenoleranz. Die übrigen Parameter sind meist aufwendig zu erheben bzw. nicht genügend reproduzierbar.

Danksagung

Die Ergebnisse wurden im Rahmen von zwei CORNET-Projekten (Collective Research NETWORKING) erzielt, die in Österreich durch die FFG (Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft) und Saatgut Österreich finanziert wurden. In Deutschland wurde das Projekt aus Mitteln der AiF (Arbeitsgemeinschaft industrieller Forschungsvereinigungen) und des BMWi (Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie) gefördert. Die Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) beteiligte sich ebenfalls. In Ungarn trat NKTH (National Office for Research and Technology) als Finanzpartner auf.

Literatur

- AGES, 2013: Österreichische Beschreibende Sortenliste 2013, Landwirtschaftliche Pflanzenarten. Schriftenreihe 21/2013. Bundesamt für Ernährungssicherheit, Wien.
- CHAVES MM, MAROCO JP, PEREIRA JS, 2003: Understanding plant responses to drought: from genes to the whole plant. *Funct Plant Biol* 30, 239-264.
- FRIEDLHUBER R, SCHMIDHALTER U, HARTL L, 2011: Einfluss von Trockenstress auf die Bestandestemperatur und den Ertrag bei

Weizen (*Triticum aestivum*). Bericht 61. Tagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2010, 155-158. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdning.

- HALLAE, 2001: Crop responses to environment. CRC Press, Boca Raton.
- JONES H, 2004: What is water use efficiency? In: BAKON MA (Eds), Water use efficiency in plant biology, 27-41. Blackwell Publ, Oxford.
- JONES HG, CORLETT JE, 1992: Current topics in drought physiology. *J Agric Sci* 119, 291-296.
- LEVITT J, 1972: Responses of plants to environmental stresses. Academic Press, New York.
- LUDLOW MM, MUCHOW RC, 1990: Critical evaluation of traits for improving crop yields in water-limited environments. *Adv Agron* 43, 107-153.
- OBERFORSTER M, SCHMIDT L, WERTEKER M, 1994: Bewertungsschema '94 der technologischen Qualität von Weizensorten (Weichweizen). *Jahrbuch* 1993, 257-280. Bundesanstalt für Pflanzenbau, Wien.
- R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012: R: A language and environment of statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna. (<http://www.R-project.org/>).
- RAY JD, SINCLAIR TR, 1997: Stomatal closure of maize hybrids in response to drying soil. *Crop Sci* 37, 803-807.
- RICHARDS RA, REBETZKE GJ, CONDON AG, VAN HERWAARDEN AF, 2002: Breeding opportunities for increasing the efficiency of water use and crop yield in temperate cereals. *Crop Sci* 42, 111-121.
- SALIH AA, ALI I A, LUX A, LUXOVA M, COHEN Y, SUGIMOTO Y, INANAGA S, 1999: Rooting, water uptake and xylem structure adaptation to drought of two sorghum cultivars. *Crop Sci* 39, 168-173.
- TABACHNICK BG, FIDELL LS, 2007: Using multivariate statistics, 5th Ed. Allyn & Bacon, Boston.
- TEIZER B, 2010: Novel selection criteria for drought tolerant winter wheat genotypes and their correlations to drought stress indicators, crop developments, plant morphology, yield and quality parameters. M.Sc. Thesis, BOKU-University of Natural Resources and Life Sciences, Vienna.
- WEST BT, WELCH KB, GALECKI AT, 2007: Linear mixed models. A practical guide using statistical software. Chapman & Hall, New York.

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

Hohe Glucosinolatgehalte in Raps - eine Folge der Klimaänderung

High glucosinolate levels in rapeseed - a consequence of changed climate

Manfred Werteker^{1*}, Klemens Mechtler und Gabriela Kramreither

Abstract

In 2012 rapeseed (*Brassica napus* L.) grain yield and glucosinolate levels (GSL) were significantly affected by varying environmental conditions. The lowest grain yield (19.5 dt·ha⁻¹) together with the highest level of GSL (40.8 μmol·g⁻¹) was observed in North East Austria while highest yields (70.1 dt·ha⁻¹) were observed in Upper Austria together with low to moderate GSL levels. Year specific peculiarities were the occurrence of frost after flowering in the second half of May and a lack of precipitations in the Northeastern areas from April until harvest time. Therefore, it was hypothesized that high GLS levels may be the consequence of an increased nitrogen supply due to reduced increase of biomass during the vegetation period. Our observations made clear, that grain yield is influenced by local climatic conditions - low yields in Eastern Austria due to frost and lack of water and high yields in Western Austria. But no reliable relation could be established between yield and nitrogen uptake, which was indicated by the crude protein level of the seeds. The relation between yield and protein was strongly influenced by the location of the trials. It may be argued, that there are too many environmental influences on the distribution of nitrogen to the different parts of the plant. For high yields the protein and GSL levels seem to be limited by the available nitrogen but low yields are not necessarily associated with high protein levels. The high GSL levels in the present study are caused by the majority by a high nitrogen uptake before damaging of the

yield by freezing. Good linear correlations were found between protein and GSL levels of the seeds ($R^2 = 0.44$). Excluding the varietal impact in the calculation improved the correlation to $R^2 = 0.61$. From our observations it may be concluded that whilst there is no direct relation between yield and protein level in the seeds, the linear relation between proteins and GSL indicates these two compounds have the same precursors. The linearity of this relation may also be interpreted as a hint that there is no metabolism activated by circumstances inducing higher protein levels. This and the observed limitation of protein levels by high yields are in good agreement to studies reporting increased GSL concentrations in *Brassica* shoots by environmental stress as a consequence of reduced biomass increase (ANTONIOUS et al. 2009), while the enhancement of GSL production by stimulation of the metabolism is reported as a response to pathogen challenge, herbivore damage and mechanical wounding (GRUBB and ABEL 2006). In sound plant material GSL synthesis seems to be dependent mostly on the genotype and not on the environment (FRANCISCO et al. 2011). In some distinct cases, especially in broccoli, reactions of GSL synthesis to environmental conditions (e.g. osmotic stress) are reported, but these seem to be dependent to a high degree on the genetic preconditions of the plant (ZAGHDOUD et al. 2012).

Keywords

Brassica napus, drought, environment, frost, protein

References

- ANTONIOUS GF, BOMFORD M, VINCELLI P, 2009: Screening *Brassica* species for glucosinolate content. J Environ Sci Health B 44, 311-316.
- FRANCISCO M, CARTEA ME, SOENGAS P, VELASCO P, 2011: Effect of genotype and environmental conditions on health-promoting compounds in *Brassica rapa*. J Agric Food Chem 59, 2421-2431.

- GRUBB CD, ABEL S, 2006: Glucosinolate metabolism and its control. Trend Plant Sci 11, 89-100.
- ZAGHDOUD C, ALCARAZ-LÓPEZ C, MOTA-CADENAS C, MARTÍNEZ-BALLESTA MDEL C, MORENO DA, FERCHICHIA, CARVAJAL M, 2012: Differential responses of two broccoli (*Brassica oleracea* L. var. *Italica*) cultivars to salinity and nutritional quality improvement. Scientific World J 2012, 291435. DOI: 10.1100/2012/291435.

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

* Corresponding author: Manfred WERTEKER, manfred.werteker@ages.at

Association mapping for pre-harvest sprouting tolerance in European winter wheat (*Triticum aestivum* L.) germplasm

Volker Mohler^{1*}, Michael Oberforster² and Lorenz Hartl¹

Summary

Pre-harvest sprouting (PHS), the germination of mature grains in the spike before harvest, is an everpresent concern for many wheat-growing regions of the world. In Germany and Austria, wheat samples showing falling numbers (a measure for the effect of α -amylase on the rheological properties of starch) lower than 220 s are usually not marketable to the milling industry. The present study was undertaken with the objective of identifying markers linked to PHS tolerance quantitative trait loci in an elite association mapping panel of red-grained genotypes using Diversity Arrays Technology (DArT) markers. In 2009/2010 and 2010/2011 cropping seasons, 124 West European winter wheat genotypes were grown at eight locations in Germany and Austria, totalling 16 environments. The field trials included the genotypes with two replications. Four PHS data sets were collected: artificial wetting tests of intact spikes and germination tests of threshed seeds were applied to samples taken at physiological maturity from 13 and 12 environments, respectively, whereas falling number (14 environments) and percentage of sprout-damaged grains (4 environments) were determined from spikes that had experienced a period of natural/artificial weathering in the field (OBERFORSTER et al. 2012). Genotyping the sample population yielded 715 unique DArT marker signatures that were characterised by allele frequencies >5%

and missing genotype information <10%. The genotypic and phenotypic scores (of each single environment and across environments, respectively) were integrated in an association mapping framework consisting of generalized and mixed linear models with population and/or family structure as covariates. A total of 24 genomic regions/markers from 15 chromosomes were associated to at least one of the four PHS parameters of which 12 have already been described in previous studies. *Phs1*, a major locus for sprouting tolerance on chromosome 4AL repeatedly found in genetic analyses of PHS (MARES et al. 2005, TORADA et al. 2008), showed strong ($P < 0.01$) associations to intact-spike sprouting in 5 environments; weak association to the trait scores ($0.01 < P < 0.05$) was found for 3 environments. Concurrently, variation at *Phs1* was weakly associated to seed dormancy in 4 environments. Two marker loci on chromosomes 1DS and 5BL showed association with all parameters. In this study, several marker-trait associations were obtained that need to be confirmed with a larger sample population. For that, low running costs genotyping platforms are available that are ideal for the many thousands of samples of commercial breeding programmes.

Keywords

DArT, falling number, marker-trait association analysis, seed dormancy, sprout-damaged grains

Acknowledgments

We thank the following breeding companies for conducting the field trials and collaboration in the project: Lantmännen SW Seed GmbH (location Hadmersleben), Limagrain GmbH (location Rosenthal), Saatzucht Josef Breun GbR (location Herzogenaurach), Secobra Saatzucht GmbH (location Feldkirchen), Saatzucht Donau Ges.m.b.H & CoKG (location Reichersberg) and Saatzucht Edelhof (location Zwettl). Technical assistance provided by the working groups Wheat and Oat Breeding Research and Genome Analysis, and the department Quality Assurance and Analysis of the Bavarian State Research Center for Agriculture is gratefully acknowledged. CORNET project *Efficient phenotypic and molecular selection methods for enhancing preharvest sprouting tolerance of European wheat germplasm (Robust Wheat)* was supported by Bundesministerium für Wirtschaft und Technologie (BMWi), Allianz Industrie Forschung (AiF), Gemeinschaft zur Förderung der

privaten deutschen Pflanzenzüchtung (GFP) e.V., Österreichische Forschungsförderungsgesellschaft (FFG), Börse der landwirtschaftlichen Produkte in Wien and Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs.

References

- MARES D, MRVAK, CHEONG J, WILLIAMS K, WATSON B, STORLIE E, SUTHERLAND M, ZOU Y, 2005: A QTL located on chromosome 4A associated with dormancy in white- and red-grained wheats of diverse origin. *Theor Appl Genet* 111, 1357-1364.
- OBERFORSTER M, RATZENBÖCK A, WERTEKER M, NEUMAYER A, ZECHNER E, HARTL L, 2012: Variabilität und Beziehungen von Samendormanz, Auswuchs und Fallzahl in einem Sortiment europäischer Winterweizen. Bericht 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, 69-71.
- TORADA A, KOIKE M, IKEGUCHI S, TSUTSUI I, 2008: Mapping of a major locus controlling seed dormancy using backcrossed progenies in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Genome* 51, 426-432.s

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

² Österreichische Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit GmbH, Spargelfeldstraße 191, A-1220 WIEN

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

Study of yield components under heat stress conditions in wheat

Krisztina Balla^{1*}, Ildikó Karsai, Szilvia Bencze, Tibor Kiss and Ottó Veisz

Abstract

High temperature tolerance can be characterised by measuring various plant productivity traits in different developmental stages. The present work investigated the effect of exposure to high temperature (30-35°C) at first node appearance, during early embryo development and in the grain-filling stage on the yield parameters of two winter wheat varieties. Periods of high temperature had diverse effects on wheat plants in different phenophases. The greatest differences between the various developmental stages were found for grain number, grain yield and thousand-kernel weight. Heat stress was demonstrated to have the least effect on total grain number and number of grains per spikelet on the main spike during the grain-filling period. The most pronounced reductions in the traits examined were detected when heat stress was applied during the early embryo development stage.

Keywords

Global warming, high temperature, *Triticum aestivum*, yield parameter

Introduction

An increase in productivity under heat stress conditions will require the development and selection of wheat cultivars tolerant to high temperatures. Heat stress may cause considerable damage to both the length of vegetation period and yield components, but the extent of the damage is greatly influenced by the development stage in which the plants are subjected to high temperatures.

The temperature is of key importance for plant development, influencing the rate of tillering, the appearance of the nodes, flowering and even grain filling. Each phenophase has a specific temperature range within which it takes place normally to the benefit of the whole plant. If temperature conditions are unfavourable, the physiological processes may be defective, with negative consequences for both vegetative and generative developmental processes. Individual winter wheat genotypes respond differently to the exposure to high temperature in various developmental stages.

Satisfactory tillering is critical for the development of a normal stand. The rate of tillering is greatly dependent on temperature, though it also depends in part on genetic factors. The appearance of the first node is influenced to the greatest extent by temperature and nutrient and water supplies. Very high temperatures, especially when accompa-

nied by water deficit, may accelerate first node appearance excessively, resulting in stunted stems. Exposing cereals to extreme temperatures during flowering may have a damaging effect on fertilisation and grain development, leading to lower yields (PORTER 2005). In response to higher temperatures flowering and ripening are accelerated, with a significant reduction in the number of days to the boot stage, heading, flowering and maturity (RAHMAN et al. 2009). Heat stress at the beginning of flowering or during spikelet development reduces the number of potential grains. The weight of mature grains was found to be most sensitive to heat stress occurring early in the grain-filling period, becoming progressively less sensitive in later stages (STONE and NICOLAS 1995a). Stress may also be critical when it occurs during grain filling, as it may result not only in a reduction in the extent of grain filling (WARDLAW and MONCUR 1995), but also in more rapid cell death and in the earlier occurrence of harvest ripeness.

Research on the effects of exposure to heat stress in different phenophases is of outstanding importance, as the increasingly frequent occurrence of periods with extreme weather conditions means that wheat fields in Hungary may be affected not only in very early stages of development but also after heading. Heat stress may thus be decisive not only for grain filling, but also for the success of fertilisation and grain formation. One of the main aims of the present work was thus to determine the effects of high temperature during various phenophases on the yield potential of wheat.

Material and Methods

Three heat stress studies were carried out under controlled conditions in a climatic chamber on two winter wheat varieties, i.e. 'Plainsman V' (USA) and 'Mv Magma' (H), which have widely different genetic backgrounds. The plants were exposed to heat stress at a different stage of development: (i) at shooting in the 8th week; (ii) at early grain development, i.e. 6 days after heading; (iii) at grain-filling, i.e. 12 days after heading. An untreated control was included at each phenophase.

The germinated seeds were vernalised in peat pots for 45 days at 4°C with low light intensity and short daylength. The plants were then grown at controlled temperature with daily watering and a twice-weekly supply of nutrients (Volldünger Solution, Linz, Austria) in tap-water until the start of the stress treatment. High temperature was applied for 15 days under the conditions described in *Table 1* (TISCHNER et al. 1997).

¹ Cereal Resistance Breeding Department, Agricultural Institute, Centre for Agricultural Research, Hungarian Academy of Sciences, P.O.Box 19, H-2462 MARTONVÁSÁR

* Corresponding author: Krisztina BALLA, balla.krisztina@agrar.mta.hu

Table 1: Conditions applied in the heat stress experiments at three developmental stages

Treatment	Control			Heat stress		
Growth stage ¹	SH	EG	GF	SH	EG	GF
Day/night temp.	17/13°C	19/25°C	24/20°C	30/20°C	35/20°C	35/20°C
Growing/stress conditions	Phytotron	Greenhouse ²	Phytotron	Phytotron light intensity: 350 μmol m ⁻² s ⁻¹		

¹ SH, shooting (Zadoks 32); EG: early grain development (Zadoks 71-73); GF, grain filling (Zadoks 75) (TOTTMAN and MAKEPEACE 1979)

² Plants heading at approximately the same time were transferred to the phytotron for heat treatment on the 6th day after heading and then returned to the greenhouse for further growth

When harvest maturity was reached, the grain yield, biomass, thousand-kernel weight, grain number and harvest index were recorded for control and heat-stressed plants. Two-factorial analysis of variance was used with replications for the statistical evaluation of the data (KUTI et al. 2008).

Results and Discussion

The response of winter wheat to high temperatures is influenced to a decisive extent not only by the intensity and duration of the heat stress but also by the developmental stage of the plants. High temperature during the most sensitive phenophases (first node appearance, early embryo development and grain filling) had very different effects on the wheat yields (*Table 2*).

The biomass of the varieties decreased in response to stress in all three phenophases. Biomass of 'Mv Magma' decreased to a greater extent than that of 'Plainsman V' when heat stress was applied in the shooting stage. The greatest reduction of harvest index (HI) was observed for both varieties when stress occurred in the early stage of embryo development. Heat stress during grain filling had little effect on HI of 'Mv Magma'; HI was affected to the greatest extent by heat stress at first node appearance. Contrary, in 'Plainsman V' heat stress had the least effect in this stage.

The smallest change in the number of grains was recorded when heat stress was applied 12 days after heading; the greatest change after heat stress at early embryo development (*Table 2*). 'Mv Magma' was most sensitive, i.e. greatest reduction in grain number, at shooting, 'Plainsman V' during early embryo development. Heat stress at grain-filling had neither an effect on grain number nor on the number of kernels per spikelet of the main spike, as the final grain

number had already been determined by this stage. In 'Mv Magma' heat stress during early embryo development caused no reduction in the number of kernels per spikelet. For both varieties the greatest reduction was caused by heat stress at first node appearance.

The smallest decrease in 1000 kernel weight (TKW) was recorded at the shooting stage, the largest in response to heat stress during grain filling. TKW of 'Plainsman V' decreased to a lesser extent than that of 'Mv Magma' when stressed both at shooting and at early embryo development. The greatest loss of grain yield was observed after heat stress during early embryo development. The smallest loss was observed for 'Mv Magma' when the treatment was applied during grain filling and by 'Plainsman V' after heat stress at first node appearance (*Table 2*). KAUR and BEHL (2010) reported that heat-sensitive and -tolerant genotypes are more sensitive in the booting stage than after flowering (based on grain yield and grain weight per spike) when exposed to temperatures of 31-34°C. While STONE and NICOLAS (1995b) found no reduction in grain weight when heat stress was applied more than 8 days after flowering, MOHAMMADI et al. (2004) detected reductions in grain and spike weight in response to heat stress applied even 10 days after heading. These results differ from the present findings in that considerable reductions in grain weight were observed for 'Plainsman V' after heat stress at both 6 and 12 days after heading. MOHAMMADI et al. (2004) also found no change in grain number, which was confirmed in the present work.

All in all it can be stated that 'Plainsman V' was more tolerant to heat stress in the shooting stage, while 'Mv Magma' was more tolerant during grain filling. Heat stress during early embryo development had a strongly negative effect on both varieties.

Table 2: Changes in yield parameters in response to heat stress at shooting, early embryo development and grain filling

Parameters ¹ Treatment		BIOM		HI		GRAIN		TKW		YLD		KEPS	
		C ²	H	C	H	C	H	C	H	C	H	C	H
SH ³	Pla ⁴	7.4	6.7	36.1	34.6	102.4	95.4	26.7	24.4	2.8	2.3	2.3	1.64*
	Mag	7.2	4.8*	40.7	28.2*	113.8	60.2*	26.7	22.9*	2.9	1.4*	2.2	0.92*
EG	Pla	6.3	4.6*	53.2	43.8*	123.2	78.0*	27.4	26.2	3.4	2.1*	3.2	2.33*
	Mag	10.5	7.6*	52.5	38.7*	146.7	107.5*	37.7	28.9*	5.5	2.9*	2.0	1.79
GF	Pla	5.7	4.5*	44.8	34.4*	111.1	85.8	23.9	18.9*	2.6	1.5*	2.7	2.69
	Mag	6.6	4.9*	42.1	45.0	92.1	93.5	30.2	23.6*	2.8	2.2	2.4	2.34
LSD _{5%}		1.1		5.0		29.2		3.8		0.6		0.4	

¹ BIOM, biomass; HI, harvest index; GRAIN, number of grains; TKW, 1000 kernel weight; YLD, grain yield; KEPS, number of kernels per spikelet of the main spike

² C, control; H, heat stress

³ abbreviations see *Table 1*

⁴ Pla, Plainsman V; Mag, Mv Magma

Acknowledgement

This work was funded by grants from the DROPS (EU-FP7 No. 244374) and TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0025 projects.

References

- KAUR V, BEHL RK, 2010: Grain yield in wheat as affected by short periods of high temperature, drought and their interaction during pre- and post-anthesis stages. *Cereal Res Commun* 38, 514-520.
- KUTI CS, LÁNG L, BEDŐ Z, 2008: Informatical background of field experiments. *Cereal Res Commun* 36, 171-174.
- MOHAMMADI V, QANNADHA MR, ZALI AA, YAZDI-SAMADI B, 2004: Effect of post anthesis heat stress on head traits of wheat. *J Agr Biol* 6, 42-44.
- PORTER JR, 2005: Rising temperatures are likely to reduce crop yields. *Nature* 436, 174.
- RAHMAN MA, CHIKUSHI J, YOSHIDA S, KARIM JMS, 2009: Growth and yield components of wheat genotypes exposed to high temperature stress under controll environment. *Bangladesh J Agr Res* 34, 361-372.
- STONE PJ, NICOLAS ME, 1995a: Effect of timing of heat stress during grain filling on two wheat varieties differing in heat tolerance. I. Grain growth. *Aust J Plant Physiol* 22, 927-934.
- STONE PJ, NICOLAS ME, 1995b: Comparison of sudden heat stress with gradual exposure to high temperature during grain filling in two wheat varieties differing in heat tolerance. I. Grain growth. *Aust J Plant Physiol* 22, 935-944.
- TISCHNER T, RAJKAINÉ VÉGH K, KŐSZEGI B, 1997: Effect of growth medium on the growth of cereals in the phytotron. *Acta Agron Hung* 45, 187-193.
- TOTTMAN DR, MAKEPEACE RJ, 1979: An explanation of the decimal code for the growth stages of cereals, with illustrations. *Ann Appl Biol* 93, 221-234.
- WARDLAW IF, MONCUR L, 1995: The response of wheat to high temperature following anthesis. I. The rate and duration of kernel filling. *Aust J Plant Physiol* 22, 391-397.

Roggenschwarzrost, *Puccinia graminis* f. sp. *secalis*, mit resistenten Sorten kontrollieren Controlling stem rust in rye, *Puccinia graminis* f. sp. *secalis*, with resistant cultivars

Kerstin Flath^{1*}, Bettina Klocke^{1,†}, Anne Kristin Schmitt¹,
Brigitta Schmiedchen², Peer Wilde², Hartmut Spieß³ und Thomas Miedaner⁴

Abstract

Stem rust in rye (*Puccinia graminis* f. sp. *secalis*) is favored by hot spring and pre-summer temperatures and a lack of resistant cultivars in Germany. Our study aimed in analyzing the virulence situation of the pathogen and resistance situation of the host. Forty-one single-pustule isolates were tested with a preliminary differential set of 11 inbred lines selected out of a greater set of 48 lines. In addition, six lines reacted fully resistant in a detached-leaf test in seedling stage. Isolates showed a mean complexity of five virulences and were classified into 32 pathotypes. Only seven pathotypes could be found more than once. A Simpson index of 0.99 reveals a high level of diversity of German stem rust populations. In 2012, 30 rye populations were cultivated under organic conditions at five field sites, and further 40 populations at three sites, to determine the level of adult-plant resistance. The most commonly grown cultivars were highly susceptible to stem rust under artificial infection with disease severities of about 50%. Twelve foreign rye populations contained 16-62% fully resistant plants. These data are a promising starting point for developing more resistant rye cultivars.

Keywords

Adult-plant resistance, detached-leaf test, resistance breeding, rye populations, virulence analysis

Einleitung

Der Erreger des Schwarzrostes bei Roggen (*Puccinia graminis* f.sp. *secalis*) tritt in den kontinentalen Gebieten Deutschlands bereits heute regelmäßig auf. Er wird mit den Folgen des Klimawandels als wärmeliebendes Pathogen in den nächsten Jahren voraussichtlich noch erheblich höhere Schäden bewirken, wie es in den kontinentalen Gebieten in Polen und Russland heute schon geschieht. Da er mit pflanzenbaulichen Maßnahmen kaum und mit Fungiziden nur schwer zu bekämpfen ist, stellt Schwarzrost bei Roggen

für den ökologischen und konventionellen Anbau ein erhebliches Problem dar.

Roggen ist Fremdbefruchter und die vorliegenden Populationsarten sind deshalb hochgradig heterozygot und heterogen. Resistenzquellen zeichnen sich dadurch aus, dass sie unterschiedliche Anteile resistenter Einzelpflanzen enthalten. Im Rahmen eines dreijährigen Forschungsprojektes sollen (1) Resistenzquellen aus genetischen Ressourcen und adaptiertem Material gefunden, (2) ein Differentialsortiment auf der Basis von Inzuchtlinien entwickelt, (3) die Virulenzsituation des Schwarzrostes in Mitteleuropa untersucht und schließlich (4) Ausgangsmaterial für die Neuzüchtung von resistenten Roggenpopulationen bereitgestellt werden. Dazu werden Blattsegmenttests und mehrjährige Feldprüfungen mit künstlichen Schwarzrostinokulationen an fünf ökologisch bewirtschafteten Standorten durchgeführt.

Material und Methoden

Analyse der Roggenschwarzrostpopulation

Die Analyse der deutschen Roggenschwarzrostpopulation erfolgte mit Hilfe eines Differentialsortimentes aus derzeit 11 Inzuchtlinien, die aus einem 50 Linien umfassenden Sortiment der KWS Lochow GmbH nach ihrer differentiellen Schwarzrostreaktion ausgewählt wurden. Dazu wurde der Blattsegmenttest an den Erreger angepasst (KLOCKE et al. 2013). Die Infektionstypen 0 bis 2 zeigen inkompatible (avirulent/resistent), die Infektionstypen 3 bis 5 kompatible (virulent/anfällig) Reaktionen (verändert nach STAKMAN et al. 1962).

Adultpflanzen Resistenz

Zur Ermittlung der Adultpflanzen-Resistenz wurden 63 Populationen an 3 Orten (Kleinhohenheim bei Stuttgart; Berlin-Dahlem und Dahnsdorf, Landkreis Potsdam) bzw. 23 Populationen davon an weiteren 2 Orten (Dottenfelderhof, Bad Vilbel; Petkus bei Baruth) sowie sieben Populationsarten

¹ Julius-Kühn-Institut (JKI), Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Stahnsdorfer Damm 81, D-14532 KLEINMACHNOW; † derzeit Institut für Strategien und Folgenabschätzung

² KWS Lochow GmbH, Ferdinand-von-Lochow-Straße 5, D-29303 BERGEN

³ Forschung & Züchtung Dottenfelderhof, LBS Dottenfelderhof e.V., D-61118 BAD VILBEL

⁴ Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt, Fruwirthstraße 21, D-70599 STUTTGART

* Ansprechpartnerin: Kerstin FLATH, kerstin.flath@jki-bund.de

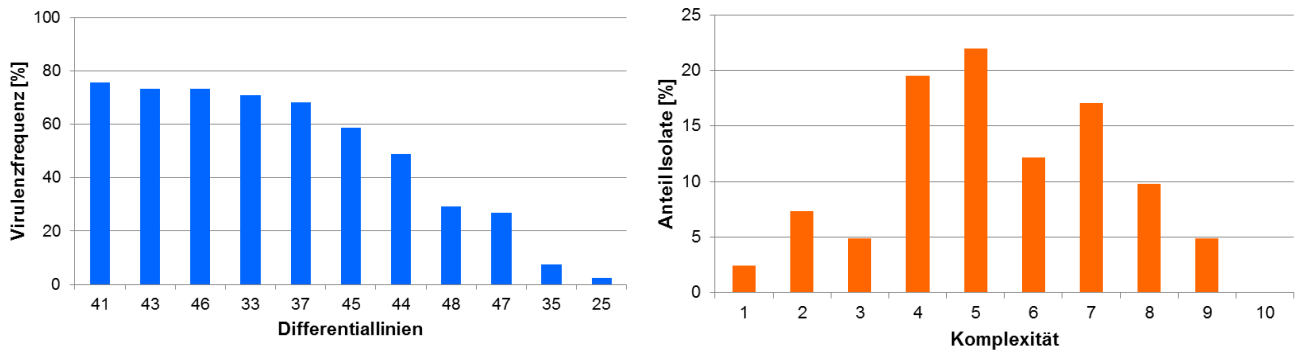


Abbildung 1: Virulenzfrequenz (links) und Virulenzkomplexität (rechts) von 41 Schwarzrostisolaten auf 11 Differentiallinien

Figure 1: Virulence frequency (left) and virulence complexity (right) of 41 stem rust isolates tested with 11 differential lines

ten mit besonderer Eignung für den Öko-Landbau ('Recrut', 'Conduct', 'Amilo', Firmament®, Lichtkornroggen®, Rolipa, Lautenbacher) an allen fünf Orten im Oktober 2011 unter ökologischen Bedingungen in dreifacher Wiederholung in Gitteranlagen angebaut. Die künstliche Inokulation der Prüflieder im Freiland erfolgte im Entwicklungsstadium BBCH 59-65. Mit Hilfe eines Mikrosprayers wurde eine Öl- bzw. Agar-Sporensuspension auf die zu prüfenden Parzellen verteilt. Für 100 m² Prüffläche wurden 120 mg Sporen verwendet (FLATH 2000a,b, FLATH und BARTELS 2000). Der prozentuale Anteil befallener Stängelgröße wurde mit Hilfe eines Boniturschemas am Ende der Epidemie an 30 Einzelpflanzen je Prüflieder erfasst und daraus der Mittelwert errechnet.

Ergebnisse

Virulenzsituation und Diversität der Roggenschwarzrostpopulation

In den Jahren 2011 und 2012 wurden bisher insgesamt 42 schwarzrostbefallene Blattproben aus den wichtigsten Anbauregionen des Roggens von ökologisch und konventionell wirtschaftenden Betrieben untersucht. Wir beabsichtigen von jeder Probe 5 Einpustelisolat (EPI) herzustellen, um eine repräsentative Aussage über die Variation innerhalb und zwischen den Standorten zu ermöglichen.

Mit Hilfe von 41 EPI konnten aus einer Stichprobe von 48 Linien elf Inzuchtlinien gefunden werden, die eine Differenzierung des Befalls zeigten (Abbildung 1), sechs weitere

Tabelle 1: Mittlere Befallsstärke (%) und statistische Kennwerte von Roggenpopulationen an den Standorten Kleinhohenheim (KHOH), Berlin-Dahlem (DAHL), Dahnsdorf (DAHNS), Dottenfelderhof (FZD) und Petkus (PET)

Table 1: Mean disease severity (%) and statistical parameters of rye populations tested at the locations Kleinhohenheim (KHOH), Berlin-Dahlem (DAHL), Dahnsdorf (DAHNS), Dottenfelderhof (FZD) and Petkus (PET)

Parameter	KHOH	DAHL	DAHNS	FZD	PET
Anzahl Populationen	70	70	70	30	30
Datum der Bonitur	17. Juni	19. Juni	3. Juli	12. Juli	6. Juli
Mittlere Befallsstärke (%)	58,0	44,5	45,0	42,0	19,5
Wiederholbarkeit (%)	83,1	75,7	72,2	90,7	41,4

Linien reagierten vollständig resistent, 31 Linien erwiesen sich als hoch anfällig. Die beiden letzteren Fraktionen tragen nicht zur Differenzierung der EPI bei, die vollständig resistenten Linien werden aber mit weiteren EPI geprüft. Mit diesem vorläufigen Differentialsortiment konnten die 41 EPI bisher 32 Pathotypen zugeordnet werden, von denen nur sieben Pathotypen häufiger als einmal vorkamen. Die Komplexität der Isolate schwankte zwischen ein und neun Virulenzen, die Mehrzahl wies eine Komplexität von fünf auf. Mit einem Simpson-Index von 0,99 zeigte sich schon jetzt eine hohe Diversität der deutschen Schwarzrostpopulation.

Feldversuche

Die Inokulation der Feldversuche mit Schwarzrostsporen war an allen fünf Standorten erfolgreich (Tabelle 1). Kleinhohenheim zeigte im Mittel die höchste Befallsstärke,

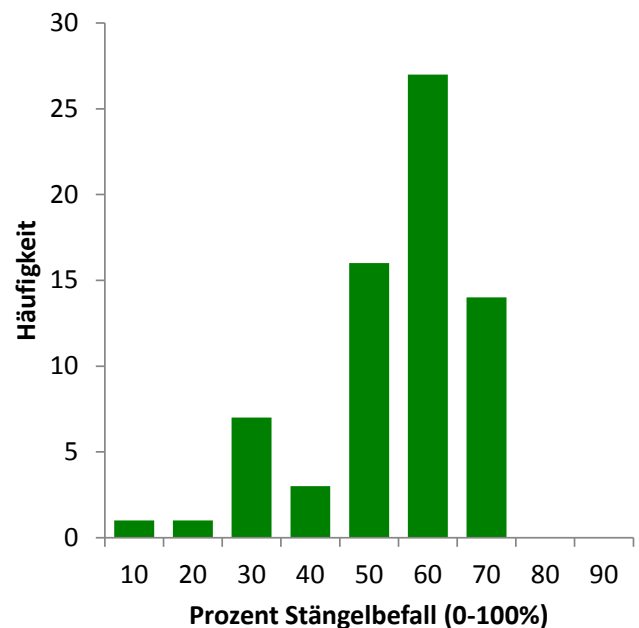


Abbildung 2: Häufigkeitsverteilung des mittleren Schwarzrostbefalls der 70 Populationen, die über drei Orte mit künstlicher Infektion geprüft wurden

Figure 2: Frequency distribution of mean stem rust rating of 70 populations tested across three inoculated locations

Tabelle 2: Prozentualer Anteil befallener Pflanzen von fünf Populationen und der anfälligen Standardsorte Recrut (30 Pflanzen in drei Wiederholungen an drei Orten; gruppiert in 10 Befallsklassen (0-100%); hervorgehoben ist der Median)**Table 2: Percentage of plants of five populations and the susceptible standard cultivar Recrut** (30 plants in three replications at three locations; grouped into 10 classes; the median is highlighted)

Population	Befallene Stängelfläche (0-100%)									
	0	<9	<19	<29	<39	<49	<59	<69	<79	>80
Hy75/81	62	25	10	3	0	0	0	0	0	0
Hy9a/86	43	17	12	13	6	3	3	3	1	0
Talowskaja 29	29	23	13	11	6	7	4	6	2	0
Wrens Abruzzi	27	22	13	9	13	7	4	3	3	0
Wheeler	16	33	15	10	8	9	3	3	3	0
Recrut	0	0	0	0	1	13	23	48	14	0

gefolgt von Berlin-Dahlem, Dahnsdorf und dem Dottenfelderhof, während in Petkus die geringste Befallsstärke erfasst wurde. Hier konnte sich der Befall aufgrund einer Vorsommertrockenheit nicht weiterentwickeln, was auch zu einer geringeren Wiederholbarkeit führte.

Von den dreierortig geprüften 70 Populationen erwies sich die Mehrzahl als anfällig bis stark anfällig (Abbildung 2). Zwei russische Populationen waren nur sehr wenig befallen (<20%), sieben weitere Populationen zeigten geringen Befall. Die Heritabilität des Versuchs war mit 0,87 sehr hoch.

Fremdbefruchterpopulationen sind naturgemäß heterogen. Deshalb wurde der Schwarzrostbefall einzelhalmweise erfasst mit der anfälligen Population 'Recrut' als Standard (Tabelle 2). Dabei hatten die russischen Populationen Hy75/81, Hy9a/86 und 'Talowskaja 29' sowie die US-Population 'Wrens Abruzzi' den höchsten Anteil vollständig nicht-befallener Einzelpflanzen. Die US-Population 'Wheeler' sowie einige weitere russische Populationen erwiesen sich als mäßig resistent.

Diskussion und Schlussfolgerung

Die Virulenzanalysen zeigten, dass sechs der geprüften Linien nach Inokulation mit bislang 41 EPI vollständig resistent gegenüber dem Schwarzrost reagierten. Diese Linien sollen zusätzlich im Feld auf Adultpflanzenresistenz geprüft werden und könnten zukünftig zur Erzeugung neuer, widerstandsfähiger Roggensorten genutzt werden. Zehn weitere Linien erwiesen als geeignet, die EPI in Pathotypen einzuteilen.

Während die sieben Populationssorten mit besonderer Eignung für den Ökolandbau an allen Standorten homogen anfällig reagierten, konnten bei einigen Populationen aus Osteuropa und den USA bis zu 62% resistente Einzelpflanzen gefunden werden. Zur Erfassung dieser erwartungsgemäß heterogenen Reaktion erwies sich die Bonitur von 30 Einzelpflanzen pro Parzelle als erfolgreich. Um die mehrortig selektierten Populationen mit einem hohen Anteil resistenter Einzelpflanzen züchterisch nutzen zu können,

sollen mit Hilfe umfangreicher Blattsegmenttests resistente Einzelpflanzen ausgelesen und für Kreuzungszwecke verwendet werden.

Bereits die einjährigen Ergebnisse zeigen, dass trotz des hohen Infektionsdruckes durch die künstliche Inokulation an fünf Ökostandorten potentielle Resistenzquellen selektiert wurden, die zur Züchtung schwarzrostresistenter Sorten genutzt werden können. Im Jahr 2013 werden diese Quellen im Blattsegmenttest auf ihre Rassenspezialität geprüft, weitere potentielle Resistenzquellen im Freiland auf die beschriebene Weise inoculiert und die Populationen mit resistenten Einzelpflanzen nochmals im Feld geprüft.

Danksagung

Das Forschungsvorhaben wurde mit Mitteln des Bundesprogramms ökologischer Landbau und andere Formen nachhaltiger Landwirtschaft (BÖLN) der Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE) gefördert (Fkz: 2810OE077). Besonderer Dank gilt Camilla Schönberg, Silvia Koch und Lilla Szabo für die Erhaltung der Isolate, die Betreuung der Freilandflächen sowie die Datenaufbereitung und -verrechnung.

Literatur

- FLATH K, 2000a: Getreidemehltau. Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtschaft 373, 6-8.
- FLATH K, 2000b: Braunrost des Weizens und Roggens; Zwergrost der Gerste. Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtschaft 373, 9-11.
- FLATH K, BARTELS G, 2000: Gelbrost. Mitt Biol Bundesanst Land-Forstwirtschaft 373, 11-14.
- KLOCKE B, FLATH K, SCHMITT A-K, MIEDANER T, SCHMIEDCHEN B, SPIESS H, SZABO L, WILDE P, 2013: Kontrolle des Roggenswarzrostes (*Puccinia graminis* f. sp. *secalis*) im Ökologischen Landbau durch Züchtung resistenten Roggens. 12. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, 5.-8. März, Bonn.
- STAKMAN EC, STEWART DM, LOEGENING WQ, 1962: Identification of physiological races of *Puccinia graminis* var. *tritici*. US Dept Agric Res Serv E617.

Selection for drought resistance of wheat using electrical capacity measurements as indicators for root system size

Anna Hermanska^{1*}, Ladislav Blaha² and Irena Bizova³

Abstract

Root system size (RSS) of wheat is a selection criterion for drought tolerance. Wheat with a better root system can better exploit soil water resources and realize higher yields. Varieties with a good water management can be donors for the creation of new breeding material more resistant to drought. Results from root system size measurements at Czech locations from 2009-2012 are presented.

Keywords

Climate change, *Triticum aestivum*

Introduction

Globally drought is a main limiting factor for crop production. Global warming already affected the climate in Czech Republic in recent years: drought periods became more frequent and rainfalls were short and heavy resulting in a less sufficient use of water by crops. Contrary, the average air temperature increased and groundwater levels declined. The growing season 2012 was one of the driest in the last 60 years. Some fields were affected that much by drought that the crops were ploughed.

Root system size (RSS) of wheat could be a selection criterion for drought tolerance. During dry periods most plants expand with their roots to deeper soil regions. Plants are able to change their morphology during dry periods, e.g. the aboveground mass is reduced whereas the mass of roots is increased. Varieties react to drought in different ways, some of them expand into deeper soil horizons while others increase the volume of roots. Wheat varieties with a more effective water management are able to realize higher yields in drought prone environments (MANSCHADI et al. 2006). Varieties with good water management could be donors for the creation of new breeding lines and varieties with improved drought tolerance. An easy method for measuring root system size is electrical capacity of roots. The premise is a variety with a larger root system size would have a higher electrical capacity.

Material and methods

37 spring wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes were sown at two sites at a distance of 500 m at Uhretice (Czech Republic) in 2009. Every variety was sown by hand in 1 m

rows (10×15 cm distances within and between rows). Per row ten grains were sown. Each variety was sown in four replications. During the vegetation period the electrical capacity of RSS, the main characteristics and diseases were evaluated for each row. Based on these results and on additional hydroponics experiments (*Figure 1*) seven varieties with different RSS, i.e. 'Amaretto' (DE), 'Bárbaro-B' (CL), 'Bhouth 4' (SY), 'Frontana' (BR), 'Granny', 'Septima' and 'Zuzana' (all CZ), were selected for further tests.

These seven varieties and 20 breeding lines of their crossing progenies were sown at three sites (Chlumec nad Cidlinou, Hustopece, Uhretice) from 2010 to 2012. Each variety and line had 40 plants. The electrical capacity of RSS was measured on 24 plants. The first measuring was carried out during stem extension (DC 34-43), the second during hea-



Figure 1: Root system size of various spring wheat varieties in hydroponics experiments (1, Zuzana; 2, Amaretto; 3, Septima; 4, Granny; 5, Frontana; 6, Bárbaro-B; 7, Bhouth 4)

¹ Selgen Ltd., Uhretice Plant Breeding Station, CZ-538 32 UHRETICE

² RCI, Dmrovska 507, CZ-161 06 PRAHA 6 - RUZYNE

³ Selton, Research Centrum, Stupice 24, CZ-250 84 SIBRINA

* Corresponding author: Anna HERMANŠKA, hermanska@selgen.cz

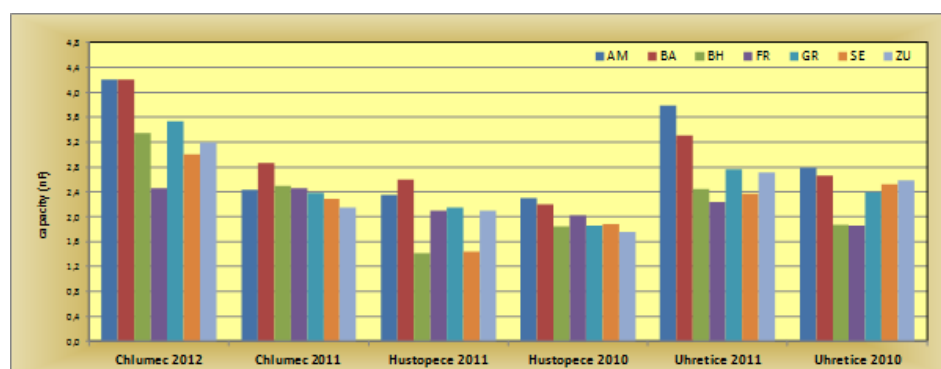


Figure 2: Mean electrical capacity of spring wheat RSS measured during stem extension and heading at three Czech locations in 2010-2012 (AM, Amaretto; BA, Bárbaro-B; BH, Bhouth 4; FR, Frontana; GR, Granny; SE, Septima; ZU, Zuzana)

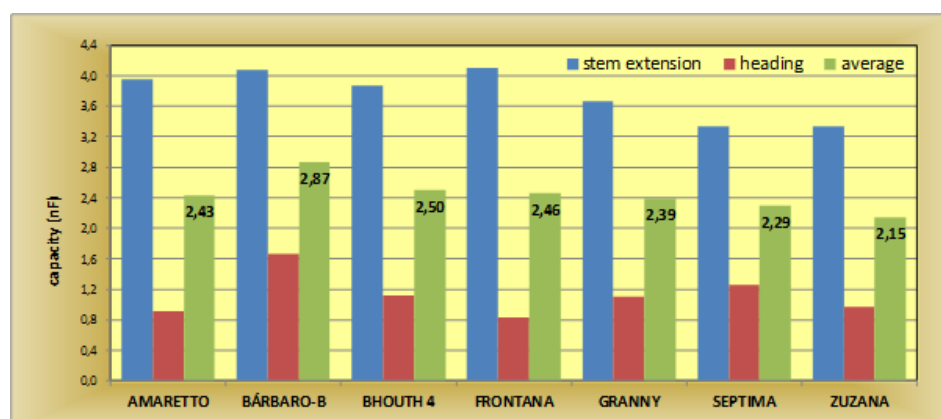


Figure 3: Mean electrical capacity of spring wheat RSS measured during stem extension and heading at Chlumec nad Cidlinou in 2011

Table 1: Mean electrical capacity of spring wheat RSS measured during stem extension and heading at Uhretice in 2010

Variety	Electrical capacity (nF)		Mean
	Stem extension	Heading	
Amaretto	4.57	1.00	2.79
Bárbaro-B	4.41	0.92	2.66
Bhouth 4	3.04	0.70	1.87
Frontana	3.19	0.52	1.86
Granny	3.87	0.93	2.40
Septima	3.98	1.08	2.53
Zuzana	4.35	0.83	2.59

ding and flowering (DC 59-69). Plants affected by viruses and border plants were not measured.

The principle of measuring RSS is based on the fact that the living part of the roots shows electrical activity on their membranes. The electrical interface between the internal and external environment is measured by a LCR Meter ELC-133A with a frequency of 1 kHz; the unit of measurement is nF. During the measurements one electrode is placed in the soil near the plant while the second electrode is connected to

the plant at 1 to 2 cm above the soil. The LCR Meter measured the electrical capacity of roots by passing AC in the electrical circuit between RSS and soil (CHLOUPEK 1977).

Results

Differences in RSS among varieties were observed at all test sites (Figure 2). 'Bárbaro-B' and 'Amaretto' had the biggest RSS during all measurements, except at Chlumec in 2011 (Figure 3). These two varieties had the largest RSS values during all measurements except for the heading stage in 2010 (Table 1), where 'Septima' exhibited the highest value (1,08 nF). Thereby, 'Bárbaro-B' and 'Amaretto' were identified as donors of a bigger RSS. Further experiments on RSS will be carried out on F2 and F3 plants of crosses between these two varieties. The electrical capacity can be affected by weather conditions during the vegetation period and by soil properties of the test site. Some varieties did not respond to these influences and showed

the same values of RSS across years and sites. The most stable variety in this respect was 'Frontana'.

There are many methods for the evaluation of RSS. We used a quick method which can be easily applied during the vegetation period for screening in the field. These and other results demonstrate that via electrical capacity it is possible to select genotypes with larger RSS (STREDA et al. 2009). Hence, this method can be used as secondary selection criterion in the breeding of drought tolerant varieties. Varieties with larger RSS should be more tolerant to drought and, therefore, more stable with respect to yield in years with limited rainfall.

References

- CHLOUPEK O, 1977: Evaluation of size of a plant's root system using its electrical capacitance. *Plant Soil* 48, 525-532.
- MANSCHADIAM, CHRISTOPHER J, DEVOIL P, HAMMER GL, 2006: The role of root architectural traits in adaptation of wheat to water-limited environments. *Funct Plant Biol* 33, 823-837.
- STREDA T, DOSTAL V, CHLOUPEK O, 2009: Slechtení a vyber odrůd obilnin s vetsy toleranci k suchu. *Uroda* 57, 10-12.

Effect of different soil moisture and meteorological conditions on the water regime of maize (*Zea mays* L.)

Jana Klimešová^{1*}, Tomáš Středa¹ and Karel Drápal¹

Abstract

Changes in the water regime of plants in response to different irrigation management were studied in a pot experiment. Stress was induced by drought and its impact was observed on the behaviour of maize. Highly significant correlation coefficients were observed between sap flow and global radiation and air temperatures, respectively. Sap flow was statistically different between irrigation regimes. Effects of global radiation, vapour pressure deficit and water deficit on sap flow were determined. Compared to field conditions soil moisture has a greater effect on sap flow in pot trials (water availability is limited by pot size).

Keywords

Air temperature, biomass, global radiation, sap flow, soil moisture, transpiration

Introduction

Soil water availability, global radiation and vapour pressure deficit are among the main determinants of plant transpiration capacity (ZEPPEL et al. 2008, DU et al. 2011, SHE et al. 2013). Daily or long term characteristics of these indicators affect plant sap flow (NAITHANI et al. 2012). If abiotic stress caused by unavailable soil water occurs - drought stress - it is possible to presume a significant effect of soil moisture on the process of transpiration. Drought stress has been a current issue in many agricultural areas due to uneven rainfall and unusually high temperatures during the growing season. Response to stress depends on its intensity and length of exposure according to the plant genotype. Based on monitoring the sap flow and meteorological values it is possible to characterise water management in plants, detect stress and rate its intensity.

Methods for the detection of sap flow are available that apply heat transmission by water contained in the xylem. These methods include the 'heat pulse method' which monitors gradual flow velocity based on a heat pulse motion in a shortly heated part of the trunk/stem. This method was published by Huber in as early as 1932 (ŠANTRŮČEK 1998). The 'thermal dissipation method' is related to the correlation between the temperature of a heated sensor and flow density (GRANIER 1985). The 'stem heat balance method' (SHB) (KUČERA et al. 1977, ISHIDA et al. 1991, LINDROTH et al. 1995) and the 'trunk sector heat balance method' (SMITH and ALLEN 1996) employ direct electrical hea-

ting of tissue and inner heat monitoring to measuring. The outcomes completed with meteorological and physiological characteristics can be used to assess individual subjects as well as forest stands and field crops canopies.

The aim of this work was (i) to identify differences in transpiration of maize plants exposed to various conditions of water supply, and (ii) to characterize the dependence of transpiration on environmental factors (air temperature, global solar radiation, soil moisture) and plant traits.

Material and Methods

A pot trial was established under natural conditions with limited rainfall. Based on physical soil analysis four variants of irrigation were run from BBCH 40 (full water holding capacity: 39%; wilting point: 21%): (A) control: 75% available water holding capacity (AWHC); (B) mild stress: 50% AWHC; (C) medium stress: 25%; and (D): significant stress: 15% AWHC (23% soil moisture). In each pot (269 dm³) 6 maize plants were sown (breeding line 2087, provided by CEZEA Čejč). Phenological data were monitored continuously and in a later phase of the trial also changes of conformation as a result of stress.

Transpiration was monitored by means of a continuous measuring of sap flow. The EMS 62 system (EMS, Brno) uses the SHB method (KUČERA et al. 1977) (Figure 1). The SHB is a non-destructive sensitive method based on physical characteristics of water. Sap flow (Q, kg·h⁻¹) was measured on two plants per pot from heading (BBCH 50) to full maturity (BBCH 89). Moreover the following meteorological variables were monitored: (i) relative air humidity (%) and air temperature (°C) in 10 min intervals by HOBO RH Temp sensors (Onset Computer Co.), (ii) volumetric soil moisture (%) by automatic electromagnetic sensors VIRRIB (AMET, Velké Bílovice) 15 min intervals, (iii) soil temperature (°C) by resistor sensors Pt100 in 15 min intervals, (iv) global solar radiation (W·m⁻²) measured by LI-COR sensors (LI-COR) in 15 min intervals, and (v) soil water potential (-bar) detected in 15 min intervals by a gypsum block connected to a MicroLog SP datalogger (EMS, Brno).

The measuring period was divided into three periods according to changes in transpiration and plant phenology (1: 27 July to 6 August; 2: 7 to 24 August; 3: 25 August to 14 September). Dependency of transpiration on natural factors (global radiation, air temperature) was assessed for each period separately so that variability of monitored features was closely recorded.

¹ Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agronomy, Mendel University, Zemědělská 1/1665, CZ-613 00 BRNO

* Corresponding author: Jana KLIMEŠOVÁ, jana.klimesova@mendelu.cz

Data were processed by MINI32 software (EMS, Brno) and statistically analysed, i.e. correlation analysis, analysis of variance including mean comparison by Tukey's HSD test, using STATISTICA 10 (StatSoft Inc., Tulsa, OK).

Results

Table 1 shows the strongest relationship between transpiration and air temperature and/or radiation for all irrigation treatments in period 1. During the growing season this dependency decreases most in the stressed variants. In period 3 an increase of dependency on radiation and temperature is evident in the variants of more water supply. A significant positive relation between radiation and sap flow was also observed in cassava (OGUNTUDE 2005), maize (LI et al. 2011) and soybean (GERDES et al. 1994). In trees of *Populus hopeiensis*, *P. simonii* and *Armeniaca ansu* the strongest relation was detected between sap flow and photosynthetically active radiation, at the same time a relation between sap flow and air temperature and air humidity was proved (ZHOU et al. 2008).

Dependency of sap flow on meteorological parameters decreases with increasing water stress. Non-significant correlation for variant D in period 3 are caused by a finished growing season.

Soil moisture varied only minimally in individual variants. Correlation coefficients were determined for average diurnal values of sap flow and soil moisture from the total growing season. A statistically highly significant dependence was discovered in variants C ($r=0.395^{**}$) and D ($r=0.528^{**}$).

The effect of air temperature and humidity on transpiration was also demonstrated for sagebrush (*Artemisia tridentata* var. *vaseyana*) in US semi-desert conditions (NAITHANI et al. 2012). However, these plants only showed weak dependence of transpiration on radiation values. This discrepancy with our results may be explained by different conditions in semi-desert environments where plants are not limited by lack of solar radiation. A greater share of radiation, temperature and air humidity on transpiration values in maize was shown by IRMAK and MUTIBWA (2010). Only a lesser part of variability was explained by soil moisture. A close correlation of radiation and vapour pressure deficit



Figure 1: Sap flow measurements of maize by EMS 62 sensors

versus soil moisture and type of plant was proved by sap flow measurement in *Quercus liaotungensis* and *Robinia pseudoacacia* (DU et al. 2011). A significant dependence of sap flow on soil moisture in a *Caragana korshinskii* was observed by SHE et al. (2013).

Plant sap flow capacity reached as much as 45 g of water per hour during the day. Similar maize sap flow values were observed in a pot trial by GAVLOSKI et al. (1991) and in a field trial by BETHENOD et al. (2000). KJELGAARD et al. (1997) determined an average maize transpiration value between 41 and 44 g·h⁻¹.

Significant differences among irrigation treatments were observed for diurnal sap flow (*Table 2*). In period 1, i.e. flowering stage, a significant difference was identified among variants A and C, D. In period 2 plant transpiration in the control variant was significantly different from the stressed variants. In period 3 a significant difference was observed between variant D and the other irrigation treatments. Even though transpiration is much dependent on the weather, a different moisture schedule caused significant differences of transpiration in individual variants. Significant differences of sap flow in grapevine of irrigated and water stressed variants were identified by ESCALONA et al. (2002). GAVLOSKI et al. (1991) observed increasing differences of sap flow between control and drought treatments of increasing water stress.

In period 1 similar sap flow was observed for variants A and B plants which decreased with time as suboptimal conditions

*Table 1: Correlation of sap flow to temperature (TEMP) and global radiation (RAD) with respect to the different irrigation treatments (**, $P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$)*

Irrigation	Period 1		Period 2		Period 3	
	TEMP	RAD	TEMP	RAD	TEMP	RAD
A	0.934**	0.881**	0.627**	0.670**	0.665**	0.640**
B	0.862**	0.873**	0.537*	0.500*	0.674**	0.722**
C	0.902**	0.699*	0.516*	0.604**	0.681**	0.773**
D	0.698*	0.439	0.030	0.563*	0.022	0.101

Table 2: Average diurnal values of sap flow (kg·h⁻¹) per plant (Statistically different means according to Tukey's HSD test are indicated by different letters)

Irrigation	Period 1	Period 2	Period 3
A	0.01861 a	0.01044 a	0.00319 a
B	0.01290 ab	0.00668 b	0.00287 a
C	0.00701 b	0.00510 b	0.00341 a
D	0.00698 b	0.00404 b	0.00003 b

continued. In period 3 plants in variant D terminated growth due to persistent water deficit stress. DU et al. (2011) also indicated an effect of plant type and phenology on sap flow capacity. PIVEC et al. (2009) confirmed an effect of maturity and senescence on sap flow of winter rapeseed.

Sap flow measurements by SHB method has detected differences in water management in plants. Plant transpiration in period 2 affected significantly plant height ($r=0.973^{**}$). A significant effect of transpiration on maize plants height in dependence of soil moisture was also confirmed by GAVLOSKI et al. (1991). Differences in aboveground dry matter biomass were not significant. Leaf area index (LAI) reached similar values in all variants, ranging from 2.6 to 3.3. Generative organs were affected by water deficit more severely.

In period 3 dry matter accumulation was mostly impacted by transpiration. Correlation between sap flow and whole plant dry matter weight was $r=0.997^{**}$. Sap flow capacity also affected the weight of cobs ($r=0.987^{**}$). Most plants in variant D produced small or no cobs; a statistically significant difference was found between variant D and the other irrigation treatments. The influence of irrigation treatments on selected plant traits are shown in *Figure 2*.

Although plants in the control variant A (75% AWHC) were not subjected to moisture stress, they produced less than 2% higher dry matter yield compared to variant B (50% AWHC). Compared to variant C (25% AWHC) the yield was even 3% lower. Plants in variant D (15% AWHC) produced 20% lower yield. Water stress did not affect biomass production as much as was presumed according to the decrease of sap flow.

The gained results enable us to identify meteorological parameters which affect transpiration directly and thus simulate

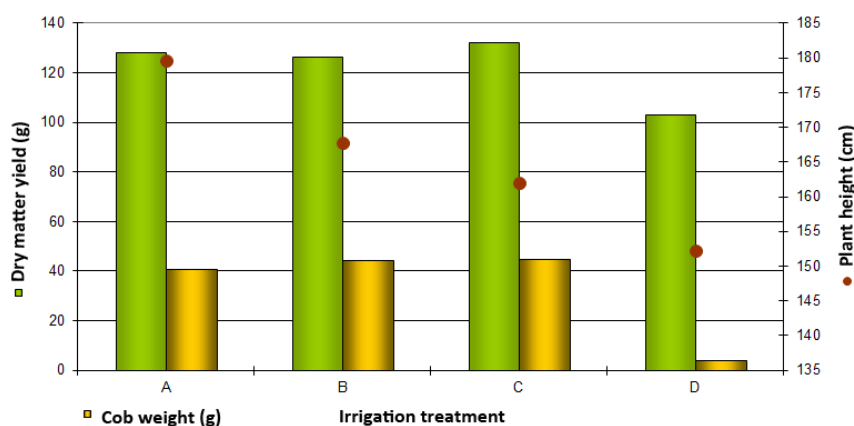


Figure 2: Selected plant traits according to irrigation regimes

the transpiration procedure in a given variety of maize. A function expressing the relation between global radiation, air temperature and sap flow was calculated for individual phenological stages. The function was derived for sap flow in non-stressed conditions.

Sap flow as per average diurnal radiation level (y) and average diurnal air temperature (x) for period 1 is described by the equation

$$z = (a+b \cdot x+c \cdot y)/(1+d \cdot x+f \cdot y)$$

where $a=-1.07 \cdot 10^{-3}$, $b=8.24 \cdot 10^{-6}$, $c=1.92 \cdot 10^{-5}$, $d=-2.79 \cdot 10^{-2}$ and $f=5.14 \cdot 10^{-5}$ ($R^2=0.977$) (*Figure 3A*).

Sap flow as per average diurnal radiation level (y) and average diurnal air temperature (x) for period 2 is described by the equation

$$z = (a+b \cdot \ln(x)+c \cdot \ln(y))/(1+d \cdot x+f \cdot y)$$

where $a=-4.03 \cdot 10^{-3}$, $b=-9.21 \cdot 10^{-4}$, $c=1.65 \cdot 10^{-3}$, $d=-2.40 \cdot 10^{-2}$ and $f=-6.06 \cdot 10^{-4}$ ($R^2=0.919$) (*Figure 3B*).

Sap flow as per average diurnal radiation level (y) and average diurnal air temperature (x) for period 3 is described by the equation

$$z = a \cdot 10^{(b/x+c \cdot y)}$$

where $a=8.29 \cdot 10^{-1}$, $b=-1.82 \cdot 10^2$ and $c=1.08 \cdot 10^{-2}$ ($R^2=0.823$) (*Figure 3C*).

Conclusions

Measurements of sap flow is one way to quantify utilization/flow of water in plants in depending on environmental factors. The 'stem heat balance' method was selected as an exact and sensitive method for sap flow detection in maize. The aim was to study the effect of selected agrometeorological variables on sap flow. At the same time the effect of water deficiency stress on sap flow was observed. Highly significant correlations were found between sap flow and global radiation and air temperature, respectively. Significant differences in sap flow were observed between irrigation regimes. Sap flow was shown to be affected by global radiation, vapour pressure deficit and water deficit. Compared to field conditions soil moisture had a greater effect on sap flow in pot trials (water availability is limited by pot size). Sap flow impacted significantly dry matter yield, cob weight and plant height of monitored plants. A significant effect of soil moisture on dry matter yield or LAI was not detected.

It is possible to anticipate further consequences of water deficit stress - effect on root system parameters and defence mechanism induction on molecular level. These mechanisms will be studied in further experiments.

Acknowledgement

This work was supported by projects of the Internal Grant Agency of Mendel University in Brno (TP 10/2012) and the Ministry of Agriculture (QJ1230056,

The impact of the expected climate changes on soils of the Czech Republic and the evaluation of their productive functions).

References

- BETHENOD O, KATERJI N, GOUJET R, BERTOLINI JM, RANA G, 2000: Determination and validation of corn crop transpiration by sap flow measurement under field conditions. *Theor Appl Climatol* 67, 153-160.
- DU S, WANG YL, KUME T, ZHANG JG, OTSUKI K, YAMANAKA N, LIU GB, 2011: Sapflow characteristics and climatic responses in three forest species in the semiarid Loess Plateau region of China. *Agric For Meteorol* 151, 1-10.
- ESCALONA J, FLEXAS J, MEDRANO H, 2002: Drought effects on water flow, photosynthesis and growth of potted grapevines. *Vitis* 41, 57-62.
- GAVLOSKI JE, WHITFIELD GH, ELLIS CR, 1992: Effect of restricted watering on sap flow and growth in corn (*Zea mays* L.). *Can J Plant Sci* 72, 361-368.
- GERDES G, ALLISON BE, PEREIRA LS, 1994: Overestimation of soybean crop transpiration by sap flow measurements under field conditions in Central Portugal. *Irrig Sci* 14, 135-139.
- GRANIER A, 1985: Une nouvelle methode pour la mesure du flux de seve brute dans le trons des arbres. *Ann Sci For* 22, 193-200.
- IRMAK S, MUTIIBWA D, 2010: On the dynamics of canopy resistance: Generalized linear estimation and relationships with primary micro-meteorological variables. *Water Resour Res* 46,
- ISHIDA T, CAMPBELL GS, CALISSENDORFF C, 1991: Improved heat balance method for determining sap flow rate. *Agric For Meteorol* 56, 35-48.
- KJELGAARD JF, STOCKLE CO, BLACK RA, CAMPBELL GS, 1997: Measuring sap flow with the heat balance approach using constant and variable heat inputs. *Agric For Meteorol* 85, 239-250.
- KUČERA J, ČERMÁK J, PENKA M, 1977: Improved thermal method of continual recording the transpiration flow rate dynamics. *Biol Plant* 19, 413-420.
- LI H, LIU Y, CAI J, MAO X, 2011: Change of sap flow rate and stem diameter microvariation of summer maize and influent factors. *Trans Chin Soc Agric Eng* 27, 187-191.
- LINDROTH A, ČERMÁK J, KUČERA J, CIENCIALA E, ECKERSTEN H, 1995: Sap flow by heat balance method applied to small size Salix-trees in a short-rotation forest. *Biomass Bioenerg* 18, 7-15.
- NAITHANI KJ, EWERS BE, PENDALL E, 2012: Sap flux-scaled transpiration and stomatal conductance response to soil and atmospheric drought in a semi-arid sagebrush ecosystem. *J Hydrol* 464-465, 176-185 (published corrigendum in *J Hydrol* 476, 496).
- OGUNTUNDE PG, 2005: Whole-plant water use and canopy conductance of cassava under limited available soil water and varying evaporative demand. *Plant Soil* 278, 371-383.
- PIVEC J, BRANT V, BEČKA D, 2009: The influence of weather conditions on the sap flow of *Brassica napus* L. during the fructification and maturation stages. *Ekológia* 28, 43-51.
- ŠANTRŮČEK J, 1998: Vodní režim rostlin. In: PROCHÁZKA S, MACHÁČKOVÁ I, KREKULE J, ŠEBÁNEK J (Eds.), *Fyziologie rostlin*, 52-88. Academia, Praha.
- SHE D, XIA Y, SHAO M, PENG S., YU S, 2013: Transpiration and canopy conductance of *Caragana korshinskii* trees in response to soil moisture in sand land of China. *Agrofor Syst*, in press. DOI 10.1007/s10457-012-9587-4
- SMITH DM, ALLEN SJ, 1996: Measurement of sap flow in plant stems. *J Exp Bot* 47, 1833-1844.

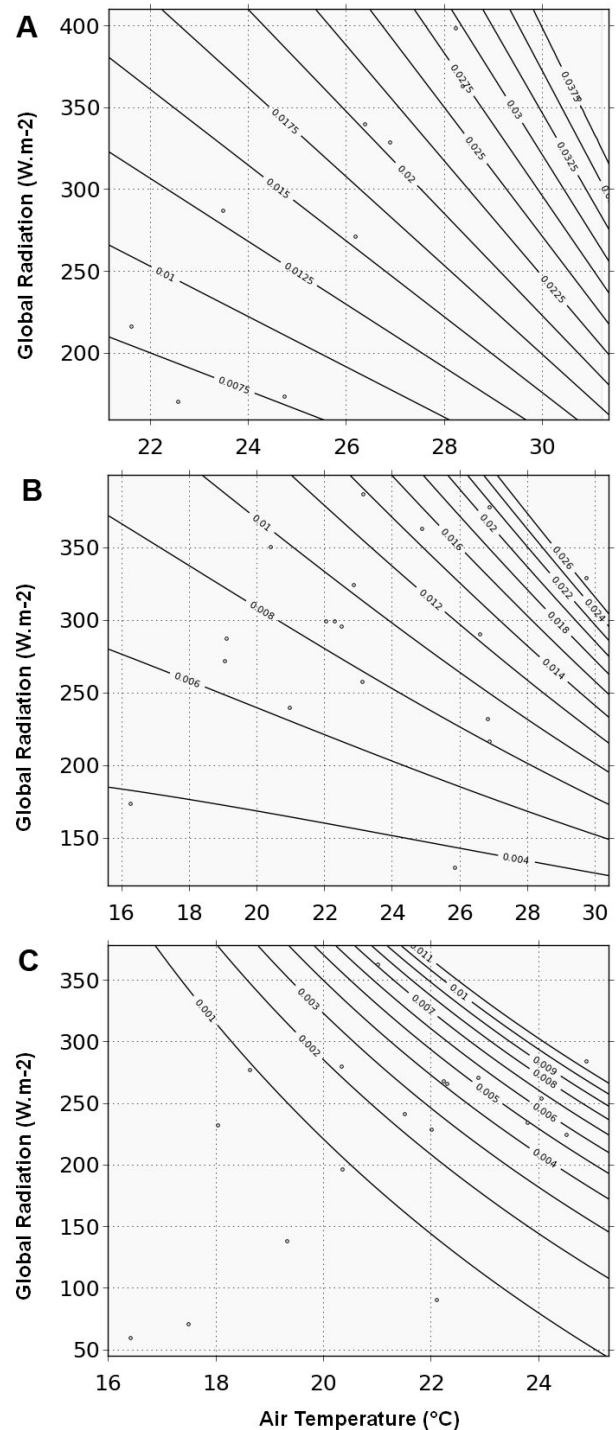


Figure 3: Simulated sap flow values ($\text{kg}\cdot\text{h}^{-1}$) for period 1 (A), period 2 (B) and period 3 (C)

ZEPPEL MJB, MACINNIS-NG C, YUNUSA IAM, WHITLEY RJ, EAMUS D, 2008: Long term trends of stand transpiration in a remnant forest during wet and dry years. *J Hydrol* 349, 200-213.

ZHOU HG, LIU GQ, JIAO X, WANG HZ, 2008: Water consumption by transpiration of several trees species in the Loess Plateau with mixed water and wind erosion. *Acta Ecol Sin* 28, 4568-4574.

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

CORNET EFFICIENT WHEAT - Improving nitrogen efficiency in European winter wheat under drought stress

Maren Livaja^{1*}, Manuela Diethelm², Adelheid Castell¹ and Lorenz Hartl²

Abstract

EFFICIENT WHEAT is a collective research project of the Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), the Technical University of Munich, Chair of Plant Breeding (TUM), and the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL). The major aims of the project are the identification of cultivars with high yield and quality potential carrying valuable alleles for enhanced NUE which become effective under drought stress, establishing of screening techniques for nitrogen associated traits, and the development of molecular markers. A core set of 30 winter wheat genotypes bred in Austria, France, Germany, Hungary and the UK represents the elite breeding material of different European climates. These genotypes are tested over two seasons (2011-2013) in field trials at (climatic) different locations in Germany, Austria and Hungary. In addition to the field trials, greenhouse experiments are conducted to grow the plants under controlled conditions. First results of the project are presented.

Keywords

Drought tolerance, nitrogen use efficiency, *Triticum aestivum*, yield stability

Introduction

The development of cultivars with high nitrogen use efficiency (NUE), high yield stability and high baking quality even under unfavorable weather conditions is one challenge regarding the increasing risk of weather extremes like heat and persistent drought in wide regions of central and eastern Europe. EFFICIENT WHEAT is a collective research project of the Austrian Agency for Health and Food Safety (AGES), the Technical University of Munich, Chair of Plant Breeding (TUM), and the Bavarian State Research Center for Agriculture (LfL) which aims to accelerate wheat breeding by improving the existing breeding material in regard to drought tolerance and NUE without influencing yield and quality. In detail, we focus on the identification of cultivars with high yield and quality potential carrying valuable alleles for enhanced NUE which become effective under drought stress, establishing of screening techniques for nitrogen associated traits, and the development of markers for marker-assisted selection (MAS). Three different work packages are conducted: (1) phenotypic characterization

of 30 European elite winter wheat varieties as well as of a DH population derived from a cross of two contrasting varieties; (2) indirect/and direct analysis of baking quality, and (3) genotyping and marker-trait associations. The core set of 30 winter wheat genotypes bred in Austria, France, Germany, Hungary and the UK represents the elite breeding material of different European climates. Over two seasons (2011/2012 and 2012/2013) these genotypes are cultivated in field trials at (climatic) different locations in Germany, Austria and Hungary. In addition to the field trials, greenhouse experiments are conducted to grow the plants under controlled conditions.

Material and methods

During the vegetation period the following phenological data were recorded: heading date, flowering time and date of grain maturity. The percentage of yellow flag leaf area was rated every 2 to 3 weeks by visual scoring in order to estimate the progress in flag leaf senescence (FLS). This assessment was carried out by the same person for each experiment. Thousand kernel weight (TKW) was recorded as well as grain yield. Using the SPAD 502 chlorophyll meter (Konica Minolta Sensing, Inc., Osaka, Japan) readings were repeatedly taken at the lower end of the upper third of flag leaves throughout the experiments. For each entry, the average value from 10 flag leaf measures was recorded. The relative water content (RWC) was determined by sampling 6 flag leaves per entry, weight the fresh weight (W), place them in water for at least 4 hours and weight them again after rehydration and removal of surface moisture (TW). Subsequently the samples were oven dried at 80°C for 24 h and the dry weight (DW) was estimated. Flag leaf relative water content was calculated as:

$$RWC (\%) = (W-DW)/(TW-DW) \times 100$$

Analysis of variance was performed using Plabstat software (University Hohenheim, Stuttgart, Germany).

Results

Analysis of variance showed significant effects of genotypes and treatments for all investigated traits at <0.001 (Table 1) with the exception of plant biomass at harvest. Genotype by environment (treatment) interaction effects were significant for all phenotypic data analyzed so far. Heritability for phenological data calculated across all environments

¹ Technische Universität München, Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung, Emil Ramann Straße 4, D-85354 FREISING

² Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85350 FREISING

* Corresponding author: Maren LIVAJA, maren.livaja@tum.de

Table 1: Variability, variance components and heritability estimates for selected phenotypic data collected in season 2011/2012 (*, $P \leq 0.001$; **, $P \leq 0.01$; *, $P \leq 0.05$)**

	HEAD ¹	GMAT	YLD	TKW	FLS	SPAD	RWC	BIOM
Minimum	134.4	188.8	47.2	38.0	0.0	8.95	58.2	0.78
Maximum	159.0	207.3	117.1	65.7	66.7	61.30	89.2	2.76
Variance components								
Genotype (G)	20.08***	9.83***	12.89***	29.45***	16.18***	8.63***	4.09***	1.55*
Environment (E)	205.28***	23.85***	11.73***	86.19***	4.15**	44.40***	18.52***	3.20*
G×E	4.68***	6.62***	3.95***	3.48***	1.62***	6.33***	1.46**	1.31*
LSD5%	1.63	2.24	6.50	1.89	6.80	5.36	2.81	0.28
Heritability	0.97	0.90	0.92	0.97	0.94	0.88	0.76	0.36

¹ HEAD, heading date; GMAT, date of grain maturity; YLD, grain yield; TKW, 1000 kernel weight; FLS, flag leaf senescence; SPAD, relative chlorophyll content estimated on flag leaves; RWC, relative water content; BIOM, biomass yield at harvest

was between 0.90 and 0.97. Heritability estimates for yield, TKW, FLS and chlorophyll content across all experiments were 0.92, 0.97, 0.94 and 0.88, respectively.

As basis for the aimed genetic association mapping, a combination of morpho-physiological trait evaluation and nitrogen analyses of wheat straw and grain are performed together with laboratory investigations of N-related genes. A limited number of candidate genes associated with N efficiency have already been identified using expression analysis in the model species maize (GALLAIS and HIREL 2004) and rice (TABUCHI et al. 2005). Also in wheat, partial sequences of genes controlling nitrogen metabolism have been identified (BOISSON et al. 2005). Using expressed sequence tag (EST)-based wheat microarrays (LU et al. 2005) showed that gene expression is significantly influenced by the amount and form of N-fertilizer. Many of the genes showing differential expression are known to participate in N metabolism and storage protein synthesis. Putative candidate genes were identified encoding enzymes involved in N assimilation and recycling (LEA and AZEVEDO 2007). These genes were present in chromosomal regions for which co-localizations between agronomic and physiological traits related to N metabolism were identified (HIREL et al. 2001, OBARA et al. 2001). Further it has been highlighted that glutamine synthetase (GS) activity is correlated to the amount of N remobilisation in kernels and grain protein content using quantitative genetic approaches (BERNARD et al. 2008, HABASH et al. 2007, KICHEY et al. 2007). Several co-localizations between QTL related to yield, physiological traits related to NUE and enzyme activities involved in the control of N assimilation and recycling were detected for nitrate reductase (NR) and glutamate dehydrogenase (GDH) in maize (HIREL et al. 2001), and proteases in barley (YANG et al. 2004). Based on these findings, candidate genes implicated

in NUE and identified from the literature will be screened for allelic variation within the 30 winter wheat genotypes (Table 2). After identification of single nucleotide polymorphism (SNP) within these gene sequences, comparative mapping will be performed using available populations.

Whole-gene Sanger-sequencing of glutamine synthetase using chromosome 2A specific primer pairs revealed two alleles of GS within our variety set. The two haplotypes correspond to GQ169687.1 and GQ169685.1 (NCBI) which were identified for 'Chinese Spring' and 'Xiaoyan54' (here one SNP was detected), respectively (Table 3). In total, 15 SNPs and one Indel of 239 bp length were detected between the START- and STOP codons. Hybrid wheat 'Hybred' wears both glutamine synthetase alleles. Unfortunately, varieties 'Format' and 'Pamier', from which our DH population derives, have the same GS allele, at least on chromosome 2A.

Table 3: Alleles of GS on chromosome 2A identified in the tested varieties

GS_2Aa (GQ169687)	GS_2Aa (GQ169685)	
Bitop	Capo	GK Szala
Brilliant	Element	Hybred
GK Hunyad	Energo	Hyland
GK Körös	Eurofit	JB Asano
Hybred	Eurojet	Komarom
Premio	Exklusiv	Midas
	Format	Pamier
	GK Bekes	Pegassos
	GK Bereny	Robigus
	GK Feny	SZD9296
	GK Kalasz	Tacitus
	GK Petur	Tiger
	GK Raba	

Table 2: Screening for allelic variation in candidate genes

Candidate gene	Species	References
NR (nitrate reductase)	Maize	HIREL et al. (2001)
NiR (nitrite reductase)	Maize	GALLAIS and HIREL (2004)
GS (glutamine synthetase)	Wheat	HABASH et al. (2007)
GDH (glutamate dehydrogenase)	Maize	GALLAIS and HIREL (2004)
ASN (asparagine synthetase)	Maize, Arabidopsis	CHEVALIER (1996), LAM (2003)
NTR (nitrate transporter)	Wheat	ZHAO (2004), YIN (2007)
TIP (tonoplast intrinsic protein)	Wheat	BERTL and KALDENHOFF (2007)

Acknowledgments

The project is financed by the German Federal Ministry of Economics and Technology (IGF 57EN/1) and coordinated by the GFP. Thanks to the following breeding companies and partners for valuable support of the project: Lantmännen SW Seed, Saatzucht Streng-Engelen, Secobra Saatzucht, KWS Lochow, Saatzucht Donau GesmbH & Co.KG, and Saatzucht Edelhof.

References

- BERNARD S, MØLLER A, DIONISIO G, KICHEY T, JAHN T, DUBOIS F, BAUDO M, LOPES M, TERCÉ-LAFORGUE T, FOYER C, PARRY M, FORDE B, ARAUS J, HIREL B, SCHJOERRING J, HABASH D, 2008: Gene expression, cellular localisation and function of glutamine synthetase isozymes in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Mol Biol* 67, 89-105.
- BERTL A, KALDENHOFF R, 2007: Function of a separate NH₃-pore in aquaporin TIP2;2 from wheat. *FEBS Lett* 581, 5413-5417.
- BOISSON M, MONDON K, TORNEY V, NICOT N, LAINE AL, BAHRMAN N, GOUY A, DANIEL-VEDELE F, HIREL B, SOURDILLE P, DARDEVET M, RAVEL C, LE GOUIS J, 2005: Partial sequences of nitrogen metabolism genes in hexaploid wheat. *Theor Appl Genet* 110, 932-940.
- CHEVALIER C, BOURGEOIS E, JUST D & RAYMOND P, 1996: Metabolic regulation of asparagine synthetase gene expression in maize (*Zea mays* L.) root tips. *Plant J* 9, 1-11.
- GALLAIS A, HIREL B, 2004: An approach to the genetics of nitrogen use efficiency in maize. *J Exp Bot* 55, 295-306.
- HABASH D, BERNARD S, SCHONDELMAIER J, WEYEN J, QUARRIE S, 2007: The genetics of nitrogen use in hexaploid wheat: N utilisation, development and yield. *Theor Appl Genet* 114, 403-419.
- HIREL B, BERTIN P, QUILLERE I, BOURDONCLE W, ATTAGNANT C, DELLAY C, GOUY A, CADIOU S, RETAILLIAU C, FALQUE M, GALLAIS A, 2001: Towards a better understanding of the genetic and physiological basis for nitrogen use efficiency in maize. *Plant Physiol* 125, 1258-1270.
- KICHEY T, HIREL B, HEUMEZ E, DUBOIS F, LE GOUIS J, 2007: In winter wheat (*Triticum aestivum* L.), post-anthesis nitrogen uptake and remobilisation to the grain correlates with agronomic traits and nitrogen physiological markers. *Field Crop Res* 102, 22-32.
- LAM H-M, WONG P, CHAN H-K, YAM K-M, CHEN L, CHOW C-M, CORUZZI G M, 2003: Overexpression of the ASN1 gene enhances nitrogen status in seeds of Arabidopsis. *Plant Physiol* 132, 926-935.
- LEA P, AZEVEDO R, 2007: Nitrogen use efficiency. 2. Amino acid metabolism. *Ann Appl Biol* 151, 269-275.
- LU C, HAWKESFORD MJ, BARRACLOUGH PB, POULTON PR, WILSON ID, BARKER GL, EDWARDS KJ, 2005: Markedly different gene expression in wheat grown with organic or inorganic fertilizer. *Proc Roy Soc B Biol Sci* 272, 1901-1908.
- OBARA M, KAJIURA M, FUKUTA Y, YANO M, HAYASHI M, YAMAYA T, SATO T, 2001: Mapping of QTLs associated with cytosolic glutamine synthetase and NADH-glutamate synthase in rice (*Oryza sativa* L.). *J Exp Bot* 52, 1209-1217.
- TABUCHI M, SUGIYAMA K, ISHIYAMA K, INOUE E, SATO T, TAKAHASHI H, YAMAYA T, 2005: Severe reduction in growth rate and grain filling of rice mutants lacking OsGS1;1, a cytosolic glutamine synthetase1;1. *Plant J* 42, 641-651.
- YANG L, MICKELSON S, SEE D, BLAKE TK, FISCHER AM, 2004: Genetic analysis of the function of major leaf proteases in barley (*Hordeum vulgare* L.) nitrogen remobilization. *J Exp Bot* 55, 2607-2616.
- YIN L P, LI P, WEN B, TAYLOR D, BERRY J O, 2007: Characterization and expression of a high-affinity nitrate system transporter gene (TaNRT2.1) from wheat roots, and its evolutionary relationship to other NTR2 genes. *Plant Science* 172, 621-631.
- ZHAO X Q, LI Y J, LIU J Z, LI B, LIU Q Y, TONG Y P, LI J Y, LI Z S, 2004: Isolation and expression analysis of a high-affinity nitrate transporter TaNRT2.3 from roots of wheat. *Acta Bot Sin* 46, 347-354.

Einfluss von Reifeunterschieden auf das Auswuchsverhalten und die Fallzahl von Winterweizensorten

Influence of different ripening stages on pre-harvest sprouting and falling number of winter wheat cultivars

Michael Oberforster^{1*}, Anton Neumayer², Elisabeth Zechner³ und Lorenz Hartl⁴

Abstract

In order to use wheat for baking purposes, pre-harvest sprouting (PHS) of maximum 1 to 2% of the kernels is tolerated and a falling number of at least 220 s is necessary. Regarding winter wheat, tests were carried out to determine whether an intervarietal relationship exists both between the date of hard dough stage (BBCH 87) and the percentage of visibly germinated kernels, as well as between the date of hard dough stage and falling number. For this aim, results of five Austrian field trial series (2 to 7 environments) of winter wheat cultivars from 2005 to 2011 were analyzed. The series included cultivars and breeding lines from Austria, Germany, Czech Republic, France and Great Britain. On average, PHS of genotypes varied from 0.1 to 39.2% and the falling number varied from 62 to 290 s. The differences in ripening time of 3.5 to 7.5 days showed a significant correlation to PHS ($r=-0.32^*$) in only one of the five series, and to falling number in two series ($r=0.48^*$ and 0.46^{**}). The coefficient of determination (R^2) between hard dough stage and PHS ranged from 0.01 to 0.17, and between hard dough stage and falling number from 0.00 to 0.37 using polynomial curve fitting. Thus, for wheat cultivars, genotypic differences in ripening of a few days have no or marginal effect on PHS and falling number.

Keywords

Falling number, pre-harvest sprouting, ripening stage, *Triticum aestivum*

Einleitung

Mit dem Begriff „Auswuchs“ wird das Auskeimen der Körner vor der Ernte bezeichnet. Feuchte Witterung in späteren Stadien der Pflanzenentwicklung gepaart mit geringer Samendormanz sind die Hauptgründe dafür. Weichweizen (*Triticum aestivum* L.) ist in dieser Hinsicht zwar weniger gefährdet als Durumweizen, Roggen und Triticale, dennoch kann das Problem gravierende Ausmaße annehmen. Die Keimung geht mit einer erhöhten Enzymaktivität einher, welche indirekt mit der Hagberg-Fallzahl gemessen wird. Es sollte die Frage beantwortet werden, ob in Weizenversu-

chen mit einheitlichem Erntetermin frühreife Genotypen aus methodischen Gründen mehr von Auswuchs und niedrigen Fallzahlen betroffen sind.

Niedrige Fallzahlwerte und physiologische Veränderungen im Korn können auch ohne sichtbaren Auswuchs auftreten. Eine derartige *pre-maturity* α -Amylase-Aktivität (PMAA) dürfte in den analysierten Versuchen nicht bzw. nur untergeordnet vorgekommen sein.

Material und Methoden

Pflanzenmaterial und Umwelten

Vier Serien von Winterweizen der österreichischen Sortenwertprüfung wurden analysiert. Die Parzellengröße variierte von 8,3 bis 12,8 m² (Versuche mit Ertragsserhebung, 3 bzw. 4 Wiederholungen) und von 4,0 bis 4,8 m² (Register ohne Ertragsserhebung, 2 Wiederholungen). Es handelt sich um 2 Versuche auf Bioflächen aus dem Jahr 2005 (BV 2005, 19 Genotypen), 3 Versuche aus der pannonischen Region (TG 2005, 30 Genotypen), 3 Versuche aus Feuchtlagen (FG 2006, 29 Genotypen) sowie 7 Versuche aus dem Alpenvorland Nieder- und Oberösterreichs (FG 2008, 30 Genotypen). In allen diesen Prüfungen trat Auswuchs unter natürlichen Witterungsbedingungen auf. Weiters wurde in den Jahren 2010 und 2011 die Auswuchsresistenz von 124 Winterweizen im Rahmen des Projektes *Robust Wheat* (RW) getestet (OBERFORSTER et al. 2012). Die Sortimente enthalten aktuelle und ehemals registrierte Sorten sowie Zuchtlinien aus Österreich, Deutschland, Tschechien, Frankreich und Großbritannien.

Untersuchungsmerkmale

Wenn das Endosperm von teigig-fester Konsistenz und ein Fingernageleindruck irreversibel ist, hat das Getreide die Gelbreife (BBCH 87) erreicht (WITZENBERGER et al. 1989). Zwei Drittel der Ähren von Haupthalmen müssen dieses Stadium aufweisen; es wurden Körner der Ährenmitte beprobt (BFL 2002). Zwecks vereinfachter graphischer Darstellung erhielt jeweils der frühreife Genotyp den Wert 1. Der Auswuchsgrad wurde anhand von 30–35 g Erntegut

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

² Saatzucht Donau Ges.m.b.H. & CoKG, A-4981 REICHERSBERG

³ Saatzucht Edelhof, Edelhof 1, A-3910 ZWETTL

⁴ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 8, D-85350 FREISING

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

(Mischprobe von 2 bis 4 Wiederholungen) mit zweifacher Lupenvergrößerung festgestellt und die gekeimten Körner in Gewichtsprozent ausgedrückt. Die Bestimmung der Fallzahl erfolgte gemäß ICC-Standard Nr. 107/1 (ICC 2011). Die Berechnung der intervarietalen Korrelationen erfolgte mit dem Statistikpaket SPSS Vers. 16.0 (SPSS Inc., Chicago).

Ergebnisse und Diskussion

Werden Sorten unterschiedlicher Reifezeit zum selben Termin gedroschen, könnte dies einen Effekt auf den Auswuchsgrad und die Fallzahl haben. So beschrieben DERERA et al. (1976) eine signifikant negative Korrelation zwischen Frühreife und Fallzahl. Nach WEILENMANN (1976) erfordert ein großes Reifespektrum innerhalb eines Versuches eine rechnerische Korrektur der Fallzahlwerte. Auch SVENSSON (1990) weist darauf hin, dass frühzeitig reifende Sorten unter Feldbedingungen ein erhöhtes Auswuchsrisko haben. Bei feuchter Witterung und einheitlichem Erntetermin werden später reifende Sorten tendenziell bevorzugt. BAINOTTI et al. (2009) teilten das Weizensortiment deshalb in eine früh und eine spät ährenschiebende Gruppe. Hingegen fand MJAERUM (1990) in Sortenprüfungen keine relevante Beziehung zwischen den Gelbreifedifferenzen und der Fallzahl bzw. α -Amylase-Aktivität.

Die Ermittlung der sortentypischen Gelbreife ist mit einem größeren Fehler behaftet. Einerseits ist das Stadium 87 nicht so präzise definierbar wie beispielsweise Beginn und Ende des Ährenschiebens (BBCH 51 und 59). Andererseits beschleunigt oder verzögert eine Änderung der Tagestemperatur und Luftfeuchte in dieser Periode die Abreife der Pflanzen. Unterschiede in der Bodengüte innerhalb eines Versuches können die Gelbreife um mehrere Tage verschieben. Wegen der zeitlichen Nähe zum Auswuchsgeschehen ist dieses Merkmal gegenüber Ährenschiebe- oder Blühdaten dennoch zu bevorzugen. Gelbreifedaten sind nicht von sämtlichen Versuchen mit Auswuchs verfügbar; teilweise wurden Ergebnisse anderer Versuche derselben Serie einbezogen. Weil der Parameter von G×U-Wechselwirkungen weniger betroffen ist, erscheint eine solche Vorgangsweise statthaft. Genotypische Mittelwerte einer Versuchsserie sind von der Fehlerstreuung der Einzeldaten größtenteils bereinigt.

Die Sortimente zeigten eine Spannweite der Gelbreife von 3,5 bis 7,5 Tage (Tabelle 1). Bei kühler Witterung können sich die in einer Region angebauten Sorten in ihrer Reife bis zu 10 Tage unterscheiden. In den Versuchen des Projektes *Robust Wheat* differierten die früheste und späteste Sorte um 8 bis 11 Tage. Allerdings wird ein derart heterogenes Sortiment innerhalb eines Gebietes nicht kultiviert. Auswuchs

Tabelle 1: Spannweite der Mittelwerte von Tag der Gelbreife, Auswuchs und Fallzahl, und Korrelationskoeffizienten zwischen Gelbreife und Auswuchs bzw. Fallzahl in 5 Versuchsserien mit 19 bis 124 Winterweizen (2005-2011)

Table 1: Range of means of hard dough stage, PHS and falling number, and correlation coefficients between hard dough stage and PHS and falling number, respectively, in 5 trial series with 19 to 124 winter wheat cultivars (2005-2011)

Versuchsserie	n	Gelbreife Spannweite (Tage)	Auswuchs (PHS)		Fallzahl	
			Mittelwerte Genotypen (Gew.-%)	r	Mittelwerte Genotypen (s)	r
BF 2005	30	3,5	0,1-19,3	-0,37	85-290	0,48*
TG 2005	19	7,0	0,1-34,8	-0,24	75-290	0,09
FG 2006	29	5,5	1,3-39,2	0,18	62-259	-0,22
FG 2008	30	6,3	1,3-17,7	-0,32*	71-252	0,46**
RW 2011, 2012	124	7,5	1,7-33,9	0,08	65-219	-0,06

*,** signifikant bei $P < 0,05$ bzw. $P < 0,01$

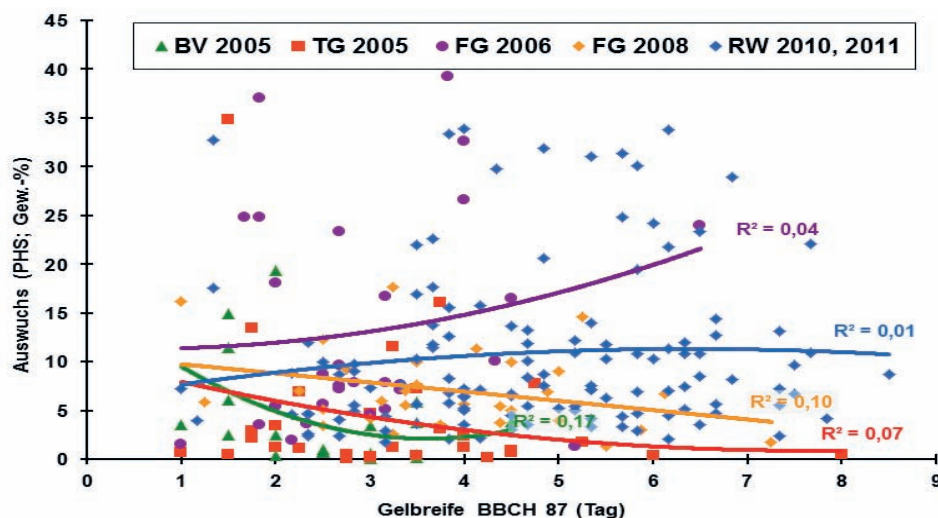


Abbildung 1: Intervarietaler Zusammenhang von Tag der Gelbreife und Auswuchs in 5 Versuchsserien (19-124 Winterweizen, jeweils Mittel aus mehreren Standorten, 2005-2011)

Figure 1: Intervarietal relationship between hard dough stage and PHS in 5 trial series (19-124 winter wheat cultivars, means determined at several locations, 2005-2011)

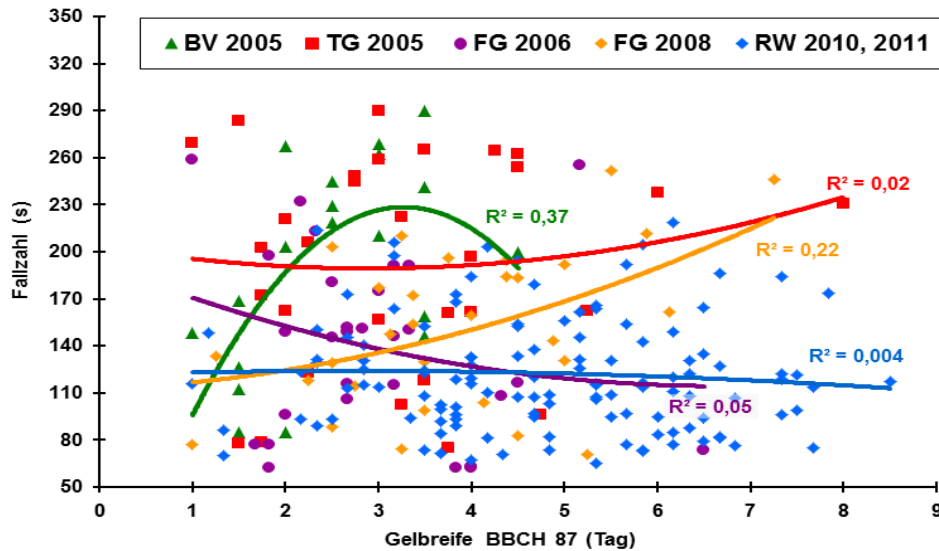


Abbildung 2: Intervarietaler Zusammenhang von Tag der Gelbreife und der Fallzahl in 5 Versuchsserien (19-124 Winterweizen, jeweils Mittel aus mehreren Standorten, 2005-2011)

Figure 2: Intervarietal relationship between hard dough stage and falling number in 5 trial series (19-124 winter wheat cultivars, means determined at several locations, 2005-2011)

und Fallzahl variierten in den fünf Serien von 0,1 bis 19% und von 85 bis 290 s (BV 2005) bzw. von 1,3 bis 39% und von 62 bis 259 s (FG 2006; Tabelle 1). In den Einzelversuchen gab es Extremwerte von 0 und 83% Auswuchs und Fallzahlen von 62 bis 424 s.

Mehrheitlich war kein signifikanter Zusammenhang von Gelbreifetage und Auswuchsgrad (Tabelle 1, Abbildung 1) bzw. Gelbreife und Fallzahl (Tabelle 1, Abbildung 2) nachweisbar. Lediglich bei den Serien BV 2005 und FG 2008 waren die Fallzahlen positiv mit dem Erreichen des Gelbreifestadiums korreliert ($r=0,48^*$ bzw. $0,46^{**}$). Im Projekt *Robust Wheat* variierten Auswuchsprozente und Fallzahlen intervarietal unabhängig von der Zeitigkeit der Reife ($r=0,08$ bzw. $-0,06$ n.s.). Ein verfälschender Einfluss genetisch unterschiedlicher Reife auf die Auswuchsneigung und Fallzahl war nicht nachweisbar oder nur schwach ausgeprägt. Bei Weizen sind Reifedifferenzen von wenigen Tagen für die Beurteilung der Auswuchsfestigkeit zumeist unbedeutend. Die Gefahr, dass frühreife und auswuchsfeste bzw. spät reifende und gegenüber Auswuchs sensitive Sorten bei einheitlichem Erntetermin nicht erkannt werden, ist relativ gering. Tritt jedoch eine Regenphase auf, wenn die Körner von späten Genotypen noch grün und milchig, jene von früh reifenden aber bereits teigig sind, ist eine abweichende Sortenreaktion zu erwarten. Zur Beurteilung der Auswuchstoleranz von Weizensorten sind Daten von mehreren Umwelten mit belastender Witterung nötig. Bei den Merkmalen Auswuchs und Fallzahl auftretende G×U-Wechselwirkungen stehen meistens nicht in Zusammenhang mit Reifedifferenzen.

Zusammenfassung

Um Weizen für Backzwecke verwenden zu können, wird normalerweise ein Auswuchs von höchstens 1 bis 2% der Körner toleriert und eine Fallzahl von mindestens 220 s vorausgesetzt. Bei Winterweizen wurde geprüft, ob eine

intervarietalen Beziehung zwischen dem Gelbreifedatum (BBCH 87) und dem Prozentsatz visuell ausgewachsener Körner bzw. zwischen dem Gelbreifedatum und der Fallzahl besteht. Hierfür wurden Ergebnisse von fünf österreichischen Feldversuchsserien (2 bis 7 Umwelten) mit Winterweizen aus den Jahren 2005 bis 2011 analysiert. Diese enthalten Sorten und Zuchtlinien aus Österreich, Deutschland, Tschechien, Frankreich und Großbritannien. Im Liniennittel variierten der Auswuchs von 0,1 bis 39,2% und die Fallzahl von 62 bis 290 s. Die Reifedifferenzen von 3,5 bis 7,5 Tagen zeigten nur in einer der fünf Serien eine signifikante Korrelation zum Auswuchs ($r=-0,32^*$); bei der Fallzahl gab es zwei solcher Serien ($r=0,48^*$ bzw. $0,46^{**}$). Bei polynomischer Kurvenanpassung variierte das Bestimmtheitsmaß (R^2) zwischen Gelbreife und Auswuchs von 0,01 bis 0,17 bzw. zwischen Gelbreife und Fallzahl von 0,00 bis 0,37. Bei Winterweizen beeinflussen genotypische Reifeunterschiede von wenigen Tagen den Auswuchsgrad und die Fallzahl zumeist nicht oder nur unbedeutend.

Danksagung

Efficient phenotypic and molecular selection methods for enhancing preharvest sprouting tolerance of European wheat germplasm (Robust Wheat, CORNET Projekt 825860) wurde von der FFG (www.ffg.at), der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs und der Börse für landwirtschaftliche Produkte in Wien finanziert.

Literatur

- BAINOTTI C, CUNIBERTI M, MASIERO B, DONAIRE G, GÓMEZ D, REARTES F, SALINES J, FORMICA M, FRASCHINA J, NISI J, MIR L, BERRA O, 2009: Characterization of wheat cultivars for pre-harvest sprouting. *Agriscientia* 26, 29-33.
- BFL, 2002: Methoden für Saatgut und Sorten. Richtlinien für die Sortenprüfung. Sorten- und Saatgutblatt. Schriftenreihe 59/2002. Bundesamt und Forschungszentrum für Landwirtschaft, Wien.

- DERERANF, McMASTER GJ, BALAAMLN, 1976: Pre-harvest sprouting resistance and associated components in 12 wheat cultivars. *Cer Res Commun* 4, 173-179.
- ICC, 2011: Bestimmung der „Fallzahl“ nach Hagberg-Perten als Maß der α -Amylase-Aktivität im Getreide und Mehl. ICC-Standard Nr. 107/1. International Association for Cereal Science and Technology, Vienna.
- MJAERUM J, 1990: The effect of agronomic characters on sprouting damage in Norwegian spring wheat. In: Ringlund K, Mosleth E, Mares DJ (Eds.), *Proc 5th Int Symp Pre-harvest sprouting in cereals*, 39-44. Westview Press, Boulder.
- OBERFORSTER M, RATZENBÖCK A, WERTEKER M, NEUMAYER A, ZECHNER E, HARTL L, 2012: Variabilität und Beziehungen von Samendormanz, Auswuchs und Fallzahl in einem Sortiment europäischer Winterweizen. Bericht 62. Tagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, 61-68. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irdring.
- SVENSSON G, 1990: Linkages between sprouting resistance and some agronomic traits in wheat. In: Ringlund K, Mosleth E, Mares DJ (Eds.), *Proc 5th Int Symp Pre-harvest sprouting in cereals*, 227-232. Westview Press, Boulder.
- WEILENMANN F, 1976: Beitrag zur Prüfmethodik in der Züchtung auf Auswuchsfestigkeit bei Weizen (*Triticum aestivum* L.). Diss. ETH 5712. ETH, Zürich.
- WITZENBERGER A, VAN DEN BOOM T, HACK H, 1989: Erläuterungen zum BBCH-Dezimal-Code für die Entwicklungsstadien des Getreides - mit Abbildungen. *Gesunde Pflanzen* 41, 384-388.

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

Differences in the drought stress response of winter wheat

Eva Truhlářová^{1*}, Tereza Ryšková, Pavlína Smutná, Ludmila Holková and Jana Klimešová

Abstract

Drought tolerance of plants is a complex character, therefore, the assessment is considerably difficult. It is most often evaluated by using physiological and morphological methods, which make the assessment of mechanisms in plants that lead to their resistance possible. The intensity of plant cell protective mechanisms can be evaluated on the molecular level. In our work, the stress response was evaluated by relative water content (RWC), osmotic pressure (OP) and the relative expression of *WDHN13* and *WRAB17* genes from the *COR/LEA* group. The evaluation included 3 varieties of winter wheat grown in the Czech Republic and one Syrian line potentially highly resistant to drought. The varieties were at the same time compared for differences in the root system size by means of specific root length (SRL). The obtained results clearly indicated a relation between the expressions of both genes and the tissue water content; RWC reduction was strongly connected with changes in the genes' activity. Particularly the expression of *WDHN13* in variety Meritto increased although the tissue hydration level was only slightly reduced, which can be related to the good adaptability of this genotype to stress.

Keywords

COR/LEA genes, drought tolerance, gene expression, *Triticum aestivum*

Introduction

Drought resistance is a polygenic complex of traits, including a range of morpho-physiological and biochemical adaptations aiming not only at the survival of plants in conditions of water deficit but also at the least yield loss under conditions of drought. The selection of tolerant genotypes becomes increasingly important with respect to the predicted effects of global warming also in Central Europe, i.e. higher temperatures, lower precipitation and an uneven distribution of precipitation during the growing season (BRÁZDIL et al. 2009). These genotypes may exhibit differences in many physiological reactions such as changes in the osmotic adaptation of plants, changes in the levels of protective proteins and other metabolites, antioxidant capacity of plants, etc. Having been exposed to stress conditions, the plants show induction of a number of biochemical and physiological changes, which lead to the development of protective mechanisms aimed at the efficient utilization of available water. The most resistant genotypes

are usually those that exhibit tolerance at multiple levels at the same time (FLEURY et al. 2010). Nevertheless, for the conditions of Central Europe it makes sense to select only traits, which do not impair yield and quality of tolerant varieties (BLÁHA 2011).

The main physiological characteristic related to tolerance to repeated drought stress, which also relates to the capacity of plant's fast regeneration is osmotic adjustment (OA). Under water deficit, the plants can control osmotic pressure by accumulating osmolyte substances, which will manifest in the maintenance of turgor and higher relative water content (RWC) in leaves (IZANLOO et al. 2008). KEYVAN (2010) reported decreased RWC in wheat plants during induced stress. Detected differences between some genotypes were likely to be connected with a better capacity to absorb water from the soil or with a better possibility to prevent water losses. According to KEYVAN (2010), genotypes that are more drought-resistant have higher RWC in leaves.

Drought is connected with a water deficit in the cell and this is why accumulation of dehydrin proteins often correlates with the plant's resistance to stress conditions. Hence, dehydrin proteins could be applicable markers for drought resistance (ATIENZA et al. 2004). In recent years, the sensitivity of plants to drought is assessed also based on the expression of protective genes from the *COR/LEA* group (RAMPINO et al. 2010).

The aim of our work was to compare intervarietal differences in some physiological traits and in the expression of protective genes from the *COR/LEA* group (*WDHN13* and *WRAB17*). These could be used as selection criteria in screening varieties suitable for further breeding in dry conditions and to study responses of different genotypes to the same stress conditions.

Material and methods

Three winter wheat varieties ('Etela', 'Meritto', 'Venistar') grown in the Czech Republic and one Syrian line 142670 (S1) originating from ICARDA were chosen to compare the stress response to a sudden drought spell during the vegetative growth phase. The varieties were sown into plastic containers with large-size perlite (3 containers with 20 plants per variety). The plants were subjected to 12 hours day at 18°C and 12 hours night at 10°C until the 3-4 leaves stage. The plants were then removed from the boxes and dried on filter paper. The physiological assessment of RWC and OP was made by 11 samplings (hourly intervals). RWC was determined according to BARR and WEATHERLEY (1962) on the second youngest leaf. OP was measured by vapour

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

* Corresponding author: Eva TRUHLÁŘOVÁ, eva.truhlarova@mendelu.cz

pressure osmometer model VAPRO 5600 (Wescor, Inc., South Logan, Utah) in the youngest parts of withering plants. Root system size was determined by digital image analysis using WinRHIZO software (Régent Instruments Inc., Quebec, Canada) after scanning of roots with an Epson perfection 700 photo scanner. The analyzed roots were subsequently surveyed for dry matter and specific root length (SRL). SRL values were calculated as the ratio of total root system length (m) / dry weight (g) (OSTONEN et al. 2007). The expression of *COR/LEA* genes was assessed during gradual wilting of plants under precisely defined conditions at 19 dates (K, control; 1, 10 min after pulling out the plant; 2, 15 min; 3, 20 min; 4, 25 min; 5, 30 min; 6, 60 min; 7, 90 min; 8, 2 h; 9, 3 h; 10, 4 h; 11, 5 h; 12, 6 h; 13, 7 h; 14, 8 h; 15, 9 h; 16, 10 h; 17, 12 h; 18, 24 h) in the second youngest leaf. RNA isolation (RNeasy Plant Mini Kit, (Qiagen, Hilden Germany) and purification (Turbo DNase-freeTM, Applied Biosystems/Ambion, Austin, TX, USA) as well as synthesis of cDNA (QuantiTect[®] Reverse Transcription Kit, Qiagen, Hilden, Germany) and qPCR (quantitative polymerase chain reaction) (SybrGreen PCR Kit, Qiagen, Hilden, Germany) were conducted according to standard protocols of these commercial kits. Gene-specific primers used in the PCR were designed according known sequence AF 255053.

Wdhn13 F: 5'GCACGGTGACCACCAGCAC3'/ R: 5'TAGCGGGTCGGGCGCGGGC3'

Wrab17 F: 5'TCCATCAACTTCAAAAATG-3'/ R: 5'TGTGGTCTTCTTGGTGGCA-3'

Reaction conditions of qPCR were used according to HOLKOVÁ et al. (2009). The relative expression of genes was calculated according to PFAFFL (2001). The expression was assessed against ubiquitin as reference gene.

Results and discussion

The expression of *WDHN13* and *WRAB17* was evaluated under conditions of gradual wilting of whole plants. The two genes are activated by drought and proteins coded by these genes are involved in the protective mechanisms of plant cells against drying out (KOBAYASHI et al. 2008). Tolerant genotypes should reveal a more rapid onset or a higher level of expression of corresponding genes in dependence of stress conditions. Compared with the level of *WDHN13* gene expression, the level of *WRAB17* gene expression was relatively low and considerably fluctuating during the wilting of plants. Therefore, our attention was focused on the evaluation of *WDHN13* expression (Figure 1).

The more tolerant variety 'Meritto' exhibited an earlier activation of *WDHN13* and at the same time a high relative expression (RE) level of the gene. 'Venistar' showed only a high RE level. Similar dynamics of gene expression was observed in 'Etela' and in S1, however, RE level was lower (particularly for S1) as compared to the other varieties. Com-

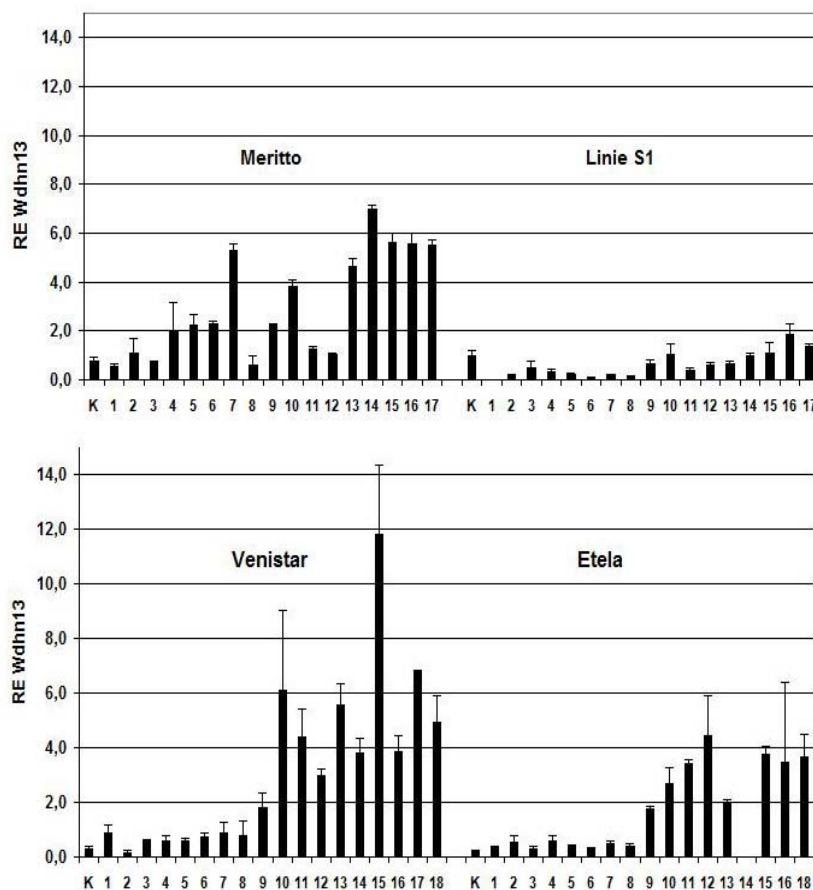


Figure 1: Evaluation of the relative expression (RE) of *WDHN13* in the course of gradual wilting of winter wheat plants. Values represent means \pm standard deviation (n=4).

Table 1: Correlation coefficients for the relationship between relative expression (RE) of *WDHN13* and *WRAB17* and relative water content (RWC) and osmotic pressure (OP), respectively, during gradual drying out of wheat plants ($P \leq 0.01$; * $P \leq 0.05$).**

	RE <i>WDHN13</i>	RE <i>WRAB17</i>	RE <i>WDHN13</i>	RE <i>WRAB17</i>
Venistar			Meritto	
RWC	-0.70**	-0.55*	-0.75**	-0.14
OP	-0.54*	-0.87**	-0.33	-0.05
Etela			S1	
RWC	-0.78**	-0.43	-0.81**	-0.58*
OP	-0.73**	-0.35	-0.64**	-0.65**

paring RE with RWC values (Figure 2), the earlier onset of increasing *WDHN13* gene expression in Meritto probably did not connect with the level of wilting.

The increased activity of the gene was detected at a time when the plants were still maintaining a high water content in the leaves (RWC = 90%). RAMPINO et al. (2006) recorded a similar phenomenon in durum wheat: activation of the expression of genes from the *COR/LEA* group was recorded earlier in more drought tolerant genotypes.

Why a similar mechanism was not observed in ‘Venistar’ is unclear; it is probably replaced by another protective or control mechanism if grown under natural conditions. A similar hypothesis may apply to S1 in which, however, the existence of its drought tolerance is unclear. Winter damage to the stands of this line in 2011/2012 (data not shown) indicates a generally lower tolerance to abiotic stress (frost), which would be in good agreement with the result of our experiment.

The close relation between the level of desiccation and subsequent wilting of plants expressed by RWC and OP and relative gene expression of *WDHN13* and *WRAB17* is demonstrated by statistically significant correlations (Table 1). Significant correlations between the relative expression of *WDHN13* and *WRAB17* and RWC and OP were observed for

‘Venistar’ and S1, whereas for ‘Etela’ only the correlations with *WDHN13* were significant. For ‘Meritto’ a significant correlation was found only between RWC and *WDHN13* expression. According to KAMOSHITA et al. (2008) genotypes that can keep a higher RWC are more resistant to drought. In the present experiment the highest RWC (>70%) during desiccation was observed for ‘Meritto’. SMUTNÁ and RYŠKOVÁ (2012) demonstrated that this variety shows stable yields under Czech climatic conditions. TAHARA et al. (1990) reported a positive relation between wheat grain yield and RWC measured during anthesis and mid-grain filling. Varieties with higher grain yields maintained a markedly higher RWC than low-yielding varieties. The greater decrease of RWC due to drought-induced stress is connected mainly with the capacity of more tolerant genotypes to better absorb soil water and/or with the capacity to prevent water loss through stomata (KEYVAN 2010). In our experiment the plants were pulled out from the soil. Therefore, only the second factor, i.e. transpiration control, could have been effective. Nevertheless, there could have been another factor: ‘Meritto’ showed faster development and had one leaf more at the prevalent conditions. During wilting, water from the lower leaves is transported to younger leaves, which have a smaller value of water potential. (KRPEŠ 2004). This is why ‘Meritto’ had more water available for distribution into younger parts of the plant.

According to SMUTNÁ and RYŠKOVÁ (2012) ‘Venistar’ showed good adaptation to drought conditions in long-term field trials. However, RWC of Venistar fell below 70% already within 25 minutes after the plant had been pulled out from the container (Figure 2). In the given growth stage, plants of ‘Venistar’ did not exhibit higher drought resistance compared to the other varieties. Drought-induced RWC decrease independent of drought resistance level was observed already by SCHONFELD et al. (1988). RITCHIE et al. (1990) reported that higher RWC results from either better osmotic regulation or lower elasticity of cell walls.

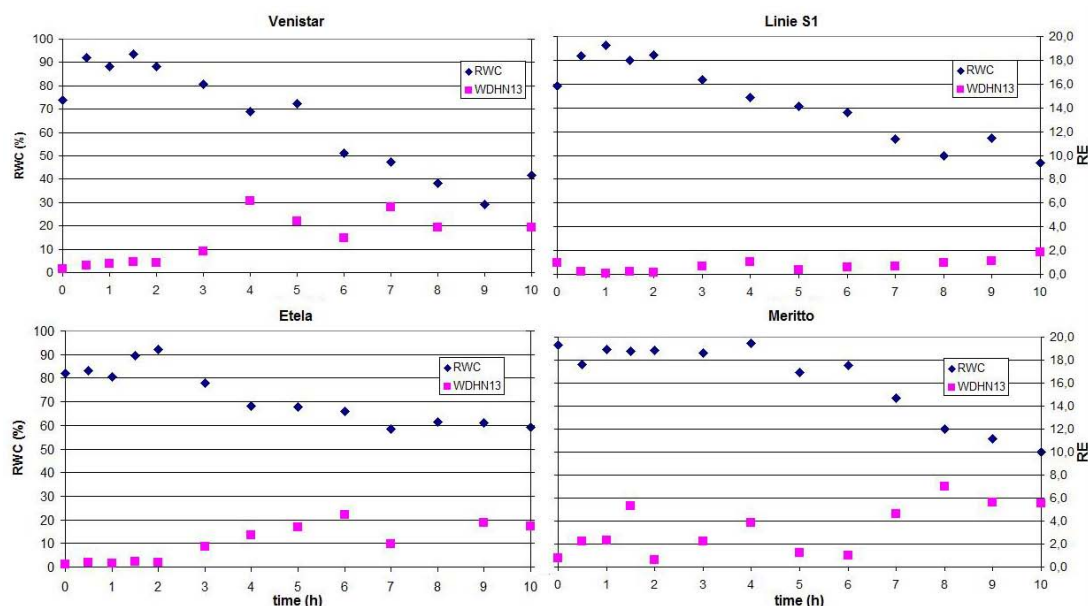


Figure 2: Relationship between relative *WDHN13* gene expression and relative water content (RWC) during evaluated over the period of gradual wilting

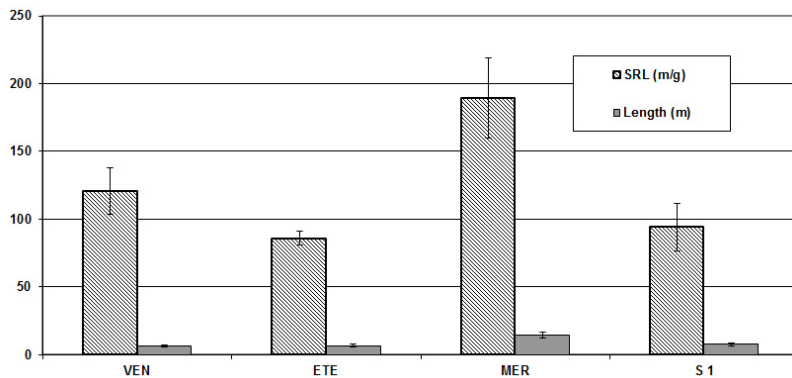


Figure 3: Specific root length (SRL) and the total root length of winter wheat (values represent means of 5 plants \pm standard deviation; VEN, Venistar; ETE, Etela; MER, Meritto; S1, Syrian line 1)

The relatively high level of *WDHN13* expression could point to a presence of other protective mechanisms that can manifest under field conditions. A part of drought adaptation mechanisms could be a higher expression of genes from the *COR/LEA* group.

The response of plants to drought stress can be affected by root system size and root architecture. *Figure 3* shows differences in the size and structure of the root systems of the tested germplasm. SRL is likely to be the most frequently assessed morphological trait expressing the architecture (fineness) of roots. SRL depends on both soil quality and genotypic effects; also genotype by environment interaction can be observed (OSTONEN et al. 2007, HAJZLER et al. 2012). Results in *Figure 3* indicate that 'Meritto' had the largest root system with the finest root hairs. Root hairs enlarge the external root surface, which results in increased absorption of water and nutrients by the plant. This property could have contributed to the observed higher biomass of 'Meritto' in the prevalent experimental conditions.

Conclusion

A clear correlation was demonstrated between the loss of water of leaf tissues and the expression of *WDHN13* and *WRAB17* genes in winter wheat. The more tolerant varieties repeatedly showed an earlier onset and/or a higher level of the expression of genes from the *COR/LEA* group. Based on the assessed parameters the most tolerant genotype was 'Meritto'. Plants of this variety maintained water in leaf tissues >70% for the longest time and showed the most rapid onset of protective response, i.e. *WDHN13* gene activation.

Acknowledgments

This study was supported by the Internal Grant Agency of the Faculty of Agronomy, Mendel University, Brno, project TP 10/2012.

References

- ATIENZA SG, FACCIOLI P, PERROTA G, DALFINO G, ZSCHIESCHE W, HUMBECK K, STANCA M, CATTIVELLI L, 2004: Large-scale analysis of transcripts abundance in barley subjected to several single and combined abiotic stress conditions. *Plant Sci* 167, 1359-1365.
- BARR HD, WEATHERLEY PE, 1962: A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. *Aust J Biol Sci* 15, 413-428.

- BLÁHA L, 2011: Znaky adaptability k podmínkám stresu u zemědělských plodin (Field crops traits of adaptability under stress conditions). In: Salaš P (Ed.), *Rostliny v podmínkách měnícího se klimatu, 20-21 Oct, Lednice, Czech Republic. Úroda, vědecká příloha 59* (10), 726-734 (in Czech, English abstract).
- BRÁZDIL R, TRNKA M, DOBROVOLNÝ P, CHROMÁ K, HLAVINKA P, ŽALUD Z, 2009: Variability of droughts in the Czech Republic, 1881-2006. *Theor Appl Climatol* 97, 297-315.
- FLEURY D, JEFFERIES S, KUCHEL H, LANGRIDGE P, 2010: Genetic and genomic tools to improve drought tolerance in wheat. *J Exp Bot* 61:3211-3222.
- HAJZLER M, KLIMEŠOVÁ J, STŘEDA T, 2012: Biomass production of white mustard (*Sinapis alba* L.) varieties in relation to the root system size. Tagungsband der 62. Arbeitstagung der Vereinigung der Pflanzenzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs 2011, 105-108. LFZ Raumberg-Gumpenstein, Irnding, Austria.
- HOLKOVÁ L, PRAŠIL I, BRADÁČOVÁ M, VÍTÁMVÁS P, CHLOUPEK O, 2009: Screening for frost tolerance in wheat using the expression of dehydrin genes *Wcs120* and *Wdhn13* at 17°C. *Plant Breed* 128, 420-422.
- IZANLOO A, CONDON AG, LANGRIDGE P, TESTER M, SCHNURBUSCH T, 2008: Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *J Exp Bot* 59, 3327-3346.
- KAMOSHITA A, BABU RC, BOOPATHI NM, FUKAI S, 2008: Phenotypic and genotypic analysis of drought-resistance traits for development of rice cultivars adapted to rainfed environments. *Field Crop Res* 109, 1-23.
- KEYVAN S, 2010: The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. *J Anim Plant Sci* 8, 1051-1060.
- KOBAYASHI F, ISHIBASHI M, TAKUMI S, 2008: Transcriptional activation of *COR/LEA* genes and increase in abiotic stress tolerance through expression of a wheat *DREB2* homolog in transgenic tobacco. *Transgenic Res* 17, 755-767.
- KRPEŠ V, 2004: *Ekofyziologie rostlin*. Ostravská univerzita, Ostrava, Czech Republic.
- OSTONEN I, PÜTTSEPP Ü, BIEL C, ALBERTON O, BAKKER MR, LÖHMUS K, MAJDI H, METCALFE D, OLSTHOORN AFM, PRONK A, VANGUELOVA E, WEIH M, BRUNNER I, 2007: Specific root length as an indicator of environmental change. *Plant Biosyst* 141, 426-442.
- PFÄFFL MW, 2001: A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acid Res* 29, 2002-2007.
- RAMPINO P, PATALEO S, GERARDI C, MITA G, PERROTTA C, 2006: Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant Cell Env* 29, 2143-2152.
- RITCHIE SW, NGUYAN HT, HOLADAY AS, 1990: Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Sci* 30, 105-111.
- SCHONFELD MA, JOHNSON RC, CARVER BF, MORNHINWEG DW, 1988: Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Sci* 28, 526-531.
- SMUTNÁ P, RYŠKOVÁ T, 2012: Evaluation of stress susceptibility in winter wheat varieties using drought tolerance indices. Proceedings of the 11th Alps-Adria Scientific Workshop, 26-31 March, Smolenice, Slovakia. *Növénytermelés* 61 (Suppl. 1), 41-44.
- TAHARA M, CARVER BF, JOHNSON RC, SMITH EL, 1990: Relationship between relative water-content during reproductive development and winter wheat grain yield. *Euphytica* 49, 255-262.