

# Erhöhung der komplexen *Phytophthora*-Resistenz der Kartoffel durch Einbeziehung unterschiedlicher Resistenzgene und Mechanismen

Bund-Bundesländer Kooperation, Projekt BMLFUW Nr. 1235  
NÖ Nr. ND 80-2001

Abschlussbericht und Bericht der Arbeiten im Jahr 2005



## INHALT

## SEITE

Zusammenfassung	3
Summary (English)	4
Z1. Ergebnisse des Projekts; Gesamtübersicht 2001-2005	5
Z2. Training	8
Z3. Publikationen unter Beteiligung des Projekts	8
Z4. Geschaffene Ausgangspunkte für weiterführende Forschung und Entwicklung	12
Z5. Direkte Folgeprojekte	12
Z6. Themenkomplexe, die weiterer Bearbeitung bedürfen	12
Bericht über die Arbeiten im Jahr 2005	13
0. Feldversuche 2005, Übersicht, generelle Methoden	13
1. Auswirkung verringerter Fungizidapplikation bei hoher Krautfäuleresistenz	14
2. Feldversuche zur Spaltung von Phytophthora Resistenz in der Kreuzungspopulation MF-IIxTPS67 und Auswirkung von Resistenzfaktoren auf den Infektionsgrad im Feld	18
3. Glashaus und Labortests zur Bestimmung der genetischen Spaltung von Resistenz	20
4. Auswahl zusätzlicher segregierender Kreuzungsnachkommenschaften zur Entwicklung und Testung von molekularen Resistenzmarkern	20
5. Glashaustest zur Feststellung der Wirkung von Licht auf die Resistenz	23
6. Einkreuzung der Resistenz in Zuchtklone	24
7. Monitoring von <i>P. infestans</i> Populationen in Österreich	25
Danksagungen	29
Anhang mit Abbildungen	30

## Zusammenfassung

Die Kraut- und Braunfäule, verursacht durch den Algenpilz *Phytophthora infestans*, ist ökonomisch signifikant. Die Resistenz der Pflanze als Alternative zu chemischer Kontrolle und das Monitoring des Erregers waren Schwerpunkte. Von 2002 bis 2005 wurden einhundert Sorten des Weltsortiments auf Resistenz geprüft, ein Drittel wurde als Geniteure für die Züchtung detektiert. Mit diesen Ausgangsformen haben die Projektpartner, Niederösterreichische Saatzucht GmbH und ARC Seibersdorf research GmbH, gezüchtet und die neue Resistenz in österreichisches Zuchtmaterial überführt. Allein aus dem ersten Kreuzungsjahr 2002 sind nach scharfer Selektion auf Knolleneigenschaften, Ertrag und Widerstandsfähigkeit gegen Virose 14 fortgeschrittene Zuchtstämme im Jahr 2005 ausgelesen worden.

Ein Feldversuch zum Ersatz von Fungiziden durch Resistenz wurde durchgeführt. Gute Ergebnisse aus zwei Jahren zeigen, dass mit resistenten Sorten die Möglichkeit der Verringerung von Fungizidapplikationen besteht. Weitere Versuche für Praxisverfahren mit reduziertem Fungizideinsatz sollten die Züchtung hochresistenter Sorten begleiten. Die jetzt verfügbare Methodik der Züchtung und Selektion auf *P. infestans*-Resistenz erfordert beträchtliche materiell-technische Voraussetzungen. Deshalb sind die Schaffung von Ausgangsmaterial, das Resistenz in bekannter Form vererbt und die Entwicklung von angepassten Selektionshilfsmitteln wie Bioassays und molekulare Marker erforderlich. Im Projekt wurden für Geniteure zugeschnittene Selektionsmarker generiert. Zwei der resistenten Sorten aus dem Welt-Kartoffelsortiment wurden der Analyse der Vererbung ihrer Resistenz unterzogen. Die Sorte MF-II vererbt einen vorläufig  $R_M$  benannten Resistenzfaktor und die Sorte TPS67 vererbt den Faktor  $R_T$ . Beide Faktoren sind verschieden von allen bisher bekannten und mit dem Differentialsortiment testbaren Resistenzfaktoren der Kartoffel und tragen zur Verminderung des *Phytophthora*-Befalls bei, auch dann, wenn Erregerrassen die absolute Immunitätswirkung dieser Faktoren durchbrechen. Zur Detektion der beiden neuen Faktoren am Erscheinungsbild (Phänotyp) der Resistenz wurde ein System der Testung mit bestimmten *Phytophthora*-Isolaten entwickelt. Die Selektion am Phänotyp ist aufwendig, weshalb Selektion mit molekularen Markern angestrebt wird. Zwanzig Marker-Kandidaten wurden entwickelt und getestet und ein Marker für ein Resistenz-assoziiertes Kinase-Gen war mit dem Vorkommen des Faktors  $R_M$  korreliert. Dieser sowie weitere Marker für vier Resistenz-Signalisierungs-Gene und für drei Familien von Resistenzgenen mit verwandter Nukleotidsequenz, die im Lauf der Arbeiten entwickelt wurden, werden in Folgeprojekten weiter bearbeitet, um zu praxisfähigen Selektionssystemen zu gelangen.

Die Populationen des Pathogens *P. infestans* in Österreich wurden über vier Jahre beobachtet. Erstmals wurden mit genetischen Fingerabdrücken Einblicke in die Verbreitung des Algenpilzes gewonnen. Zwei Makropopulationen, eine spezialisiert für Kartoffeln und eine für Tomaten, existieren teilweise auf engstem Raum nebeneinander. In beiden Makropopulationen haben sich regionale Mikropopulationen herausgebildet und sie besitzen ein hohes Maß von Anpassung an die Resistenz ihrer Wirte. Beide Paarungstypen von *P. infestans* sind verbreitet und vermutlich trägt sexuelle Rekombination zur hohen genetischen Flexibilität des Erregers bei.

## Summary

Late blight of potato and tomato, caused by the alga-fungus *Phytophthora infestans*, is of great economic relevance. We focused on the enhancement of the plant resistance as an alternative to chemical disease control and on the monitoring of the pathogen in Austria. Throughout 2001/02-2005, a sample of one hundred landrace varieties of the CIP world collection were trialed for resistance and one-third of these were detected as valuable progenitors for breeding. The project partners, Niederösterreichische Saatzucht GmbH and ARC Seibersdorf research GmbH, crosses these with breeding clones and in this way transferred the resistance into Austrian breeding stocks. Part of the produced progenies already have been subjected to selection at NÖS. Following intense selection for tuber traits, yield, and persistence under virus infection pressure, 14 advanced clones were maintained until 2006, from the first year of crossing, 2002.

In a field trial, it was evaluated to what extent genetic resistance can substitute control by fungicides. We observed that with highly resistant cultivars a reduction of fungicide applications per season is possible. Further experiments to select appropriate schemes for implementation in potato growing should accompany the breeding of highly resistant potato cultivars.

The currently available methodology in selection and breeding for blight resistance requires considerable technical and financial resources. Therefore, there is an urgent need for the development of genetically well-defined pre-breeding clones and associated advanced tools for selection, including phenotype and molecular markers. This project has generated progenitors of resistance and markers for selection.

Two resistant cultivars of a total of thirty identified among the CIP world collection found to be resistant in the field in Austria, were subjected to a study of inheritance of their resistance. Cultivar MF-II inherits a factor of resistance preliminarily designated as  $R_M$  and cv. TPS67 inherits factor  $R_T$ . Both factors are distinct from all known, and verifiable by the international set of potato blight resistance differentials, and both factors contribute to resistance in the field even when they are broken down by prevailing strains of the pathogen. A system was developed for detection of the two new factors by the phenotype following inoculation of segregating potato populations with specific *Phytophthora* isolates. However, selection by the phenotype is relatively laborious and depends on availability of specific resources, therefore, selection by molecular markers will be a viable alternative. We have developed and tested first candidate molecular markers and one marker for a resistance-related potato kinase gene appeared associated with the resistance of cv. MF-II due to the  $R_M$  factor. This and additional markers for four resistance-signaling genes and for large plant resistance gene families that have been developed within this project will be elaborated further in coming projects to arrive at selection systems for application in practice.

The populations of *P. infestans* in Austria have been monitored during the course of four seasons and for the first time, their genetic fingerprints revealed features of development and distribution of the alga-fungus in this area. Two macro-populations, one specializing on potato and one on tomato, coexist in partly close vicinity. Regional and local micro-populations have been detected for both macro-populations, they possess a high level of adaptation on their respective hosts and host resistances. The sexual propagation of *P. infestans* via oospores appears permanently established and this certainly contributes to the large genetic plasticity of this organism within Austria.

The project has generated new base plant materials for blight resistance breeding, tools for selection and information that represent a significant contribution to contemporary plant resistance research and integrated plant management.

## Z1. Gesamtübersicht der Ergebnisse 2001-2005

### Z1.1. Screening von Genressourcen

**Z1.1.1.** Im Verlauf von vier Jahren wurden insgesamt 100 Landsorten und Akzessionen aus der Welt-Kartoffel-Kollektion des Internationalen Kartoffelzentrums unter österreichischen Bedingungen auf ihre *Phytophthora*-Resistenz gescreent. Die Sorten waren von der Genbank Gross Lüsewitz des deutschen Instituts für Kulturpflanzenforschung zur Verfügung gestellt worden. Von diesen vorwiegend tetraploiden Materialien wurden letztendlich 30 als besonders resistente mögliche Ausgangsformen für die Züchtung kraut- und braunfäuleresistenter Spitzensorten bestimmt.

**Z1.1.2.** Als weitere Quelle hochwirksamer Resistenz wurde eine Akzession der Wildart *Solanum caripense* ausführlichen genetischen Studien unterzogen. Die Existenz strenger Kreuzungsbarrieren verhindert Übertragung dieser Resistenzgene in die Kartoffel durch traditionelle Züchtung,

**Z1.1.3.** Die klassischen R-Gen-Differentiale wurden aus pathogenfreien Kulturen angezogen und im Feld regelmässig als Fangsortiment für *Phytophthora infestans* Rassenvarianten mit entsprechender Virulenz angebaut. Auf diese Weise konnte die zeitliche Verbreitung des Erregerspektrums verfolgt werden. Parallel konnte beobachtet werden, dass die in den Differentialen R5, R8 und R9 existenten Resistenzen nach wie vor graduellen Schutz vor starkem Befall geben.

### Z1.2. Einkreuzung von Resistenz und „frisches Blut“ für die österreichische Kartoffelzüchtung

Für die direkte Anwendung in der Kartoffelzüchtung wurden Elternpflanzen zum Blühen gebracht und mehrere hundert Bestäubungen durchgeführt. Von der Selektion der Nachkommenschaften sind nun Zuchtklone in verschiedenen Stadien beim Praxispartner, Niederösterreichische Saatbau GmbH (NÖS), vorhanden (Tabelle S1).

Tabelle S1. Im gegenständlichen Projekt durchgeführte Kreuzungs- und Selektionsarbeiten zur Einführung neuen Ausgangsmaterials in das Zuchtprogramm der Niederösterreichischen Saatbau GmbH (NÖS), Meires.

Jahr	Samen	Kreuzungs-Kombinationen	Samen-eltern	Pollen-eltern	Sämlinge angebaut	Selektiert (2003)	Selektiert (2004)	Selektiert (2005)
2002	36000	38	11	10	4242	1482	56	14
2003	25000	53	20	12	2774		1837	120
2004	28000	54	26	12	3575			2530
2005	Arbeiten noch nicht abgeschlossen.							
Summen	89000	145			10591			

12% aller erzeugten Samen

### Z1.3. Untersuchung des Beitrags genetischer Resistenz zur Fungizid-Substitution im Kartoffelbau

Der Kartoffelbau ist ein Sektor des Spitzenverbrauchs an Fungiziden, vor allem zur Kontrolle der *Phytophthora*-Krankheit. In Feldversuchen demonstrierten wir, wie die heute schon vorhandenen Resistenzen zur Verringerung des Einsatzes chemischer Pflanzenschutzmittel beitragen können. Unsere Experimente konzentrierten sich auf die Reduktion der Anzahl von Applikationen. Diese Versuche stellen einen Anfang dar, eine Ausweitung im Zusammenhang mit der Verstärkung biologischer Anbauverfahren und der Einführung resistenter Sorten wird vorausgesagt. Noch nicht einbezogen wurde die Testung der Verwendung spezifischer Wirkstoffe.

#### **Z1.4. Beitrag zur Etablierung geeigneter Methoden für die verbesserte Selektion von *Phytophthora*-resistentem Zuchtmaterial**

Das gegenständliche Projekt hat auch einen Beitrag zum systematischen Vergleich und der kritischen Neubewertung klassischer Verfahrensweisen bei der Selektion von resistenten Kreuzungen und Zuchtstämmen gebracht. Im Verlauf der Untersuchungen wurde deutlich, dass Kraut- und Braunfäuleresistenz trotz der großen ökonomischen und ökologischen Bedeutung unter allen zu beachtenden Eigenschaften einer neuen Sorte leider gezwungenermaßen einen mehr untergeordneten Platz im Ablauf des Zuchtprogramms einnimmt. Die notwendige Konzentration der Ressourcen des Züchters auf Ertrags- und Qualitätseigenschaften macht die Weiterentwicklung Arbeit, Platz, Zeit und Kosten sparender Methoden zur Auslese auf *Phytophthora*-Resistenz erforderlich.

Im Projekt wurden deshalb, neben den im Kommen befindlichen molekularen Methoden, zwei klassische Verfahren neu betrachtet.

**Z1.4.1.** Im Labor durchführbare **Blättchentests**, auch bekannt als detached leaflet tests, sollten aktuell die Methode der Wahl zur Detektion von qualitativer Resistenz in genetisch spaltenden Nachkommenschaften sein. Jedoch erfordern sie als Minimum die Verfügbarkeit geeigneter Isolate des Erregers (Nullrasse) sowie Laborplatz.

**Z1.4.2.** Dem gegenüber kann die **Selektion im Feld** in klimatisch günstigen Jahren ohne künstliche Inokulation durchgeführt werden, ist aber aufwendig und von geringer Effizienz. Es ist zu beachten, dass bei Feldprüfung die Wirkung von quantitativer, polygen bedingter Resistenz nicht von derjenigen, die durch intakte oder nur noch teilweise wirksame R-Gene bedingt ist, unterschieden werden kann.

Die Einführung des neuen, resistenten Materials in die Züchtung hat beim **Züchter** das **Überdenken** und erste Modifikationen **des** bisherigen **Ausleseschemas** veranlasst (vgl. Kurzbericht von DI Fuchs, NÖS, im Anhang A).

#### **Z1.5. Weiterentwicklung von molekularen Werkzeugen, Verfahren und Markern für die Züchtung**

**Z1.5.1.** Die erste **genetische Karte** für die Resistenzgenressource *Solanum caripense* wurde mit molekularen AFLP (amplified fragment length polymorphism) Markern erzeugt. Auf der Karte wurden Marker, die mit der Resistenz gekoppelt sind, detektiert. Die Karte muss weiter verfeinert und die Marker müssen verbessert werden.

**Z1.5.2.** Molekulare Marker wurden für *Solanum*-spezifische Varianten der Resistenz-**Signalgene SGT1, EDS1 und RAR1** entwickelt. Diese Gene liegen in einfacher Kopie im Genom vor und sind weit verbreitet im Pflanzenreich.

**Z1.5.3.** Mit der sogenannten LM-PCR (ligation mediated polymerase chain reaction) Methode wurden Repräsentanten einer großen **R-Gen-Familie** aus *S. caripense* isoliert. Basierend auf den isolierten Genfragmenten wurden molekulare Marker für diese R-Gene entwickelt. Es wurde damit bewiesen, dass auf relativ einfache Weise R-Gen-Marker für spezifischen Bedarf hergestellt werden können. Leider konnte unter diesen Markern noch keiner gefunden werden, der sich zur Detektion der genannten Resistenz eignet.

**Z1.5.4.** **Molekulare Marker für Resistenz-Kandidaten-Gene** wurden für zwei im Projekt identifizierte Resistenzquellen, die Sorten MF-II und TPS67, massgeschneidert. Diese Marker wurden an den Nachkommen einer Kreuzung der beiden Genressourcen getestet. Ein Marker ist möglicherweise indikativ für die Resistenz von MF-II und wird weiter verbessert.

**Z1.5.5.** Das „Pathogenesis related“ Gen der Kartoffel **Pr1-b2** wurde aus mehreren Sorten isoliert und seine Varianten, die Allele, wurden sequenziert. Marker für diese Allele werden in Folgeprojekten getestet.

**Z1.5.6.** Für die drei Resistenz-Signal-Gene **SGT1**, **EDS1** und **RAR1** wurde ihr **Profil der Genexpression** mit der Technik real-time PCR erstellt und es wurde festgestellt, dass zwischen resistenten und anfälligen Pflanzen nach Herausforderung durch *Phytophthora* quantitative Unterschiede in der Expression auftreten. Diese Beobachtung ist ein weiteres Indiz dafür, dass die Abwehr der Krankheit mehr von der Geschwindigkeit der Reaktion als von unterschiedlichen genetischen Mechanismen abhängt.

**Z1.5.7.** Zusätzlich zu den Resistenzgenmarkern wurden **Marker für** sogenannte **Haushaltsgene**, welche konstantes Expressionsniveau haben und deshalb als Kontrollen in Expressionsassays verwendet werden, spezifisch für Solanum entwickelt.

**Z1.5.8.** Im Projekt wurden mit den genannten Entwicklungen die Grundlagen für **markerassistierte Selektionsmethoden** in der österreichischen Kartoffelzüchtung geschaffen. Molekulare Marker können generell unabhängig vom Pflanzenalter und Anbauverfahren eingesetzt werden, Voraussetzung ist nur eine geringe Menge an Erbsubstanz (DNA). Deshalb ist diese Art der Selektion strategisch zu entwickeln.

## **Z1.6. Monitoring der Populationen der *Phytophthora infestans* in Österreich über vier Jahre**

Es wurden Beobachtungen und Probenahmen über den gesamten Zeitraum 2002-2005 vorgenommen.

**Z1.6.1.** Außer im atypischen Trockenjahr 2003 konnten **jährlich 150-250 Isolate** aus allen Regionen mit relevantem Anbau von Kartoffeln und Tomaten erhalten und untersucht werden. Die Anzahl der Isolate garantiert Repräsentativität für die Regionen und es wurde international vergleichbare Information über die Populationsdynamik dieses Organismus erhalten. Diese Arbeiten waren ursprünglich ergänzend zu den Routineuntersuchungen der Agentur für Gesundheit und Ernährungssicherheit (AGES) geplant, sind jedoch nach der Beendigung der entsprechenden Arbeiten in der AGES die einzigen Erhebungen an *P. infestans* für diesen Zeitraum.

**Z1.6.2.** Das erstellte **Profil der *P. infestans* Isolate** umfasst neben den zwei Phänotypmarkern Paarungstyp und Pathotyp den molekularen Fingerabdruck mit Markern für das mitochondriale Genom (mt-DNA Haplotyp, 1 Marker) sowie das Kerngenom (SSR oder microsatellite, 3 Marker, und RFLP Marker, 1 Sonde).

**Z1.6.3.** Zusätzlich wurde eine neue Generation von Markern entwickelt. Das sind single nucleotide polymorphism (**SNP**) Marker für drei *P. infestans* Gene, *PiKin*, *NPP1* und *Stx*.

**Z1.6.4.** Mit diesen Fingerabdrücken war es möglich, Information über Besonderheiten der Populationen in Hinsicht auf makro- und mikro-geografische, wirtsabhängige sowie auf die Art der Fortpflanzung bezogene Eigenschaften zu erhalten.

**Z1.6.5.** Darüber hinaus wurden eine Reihe von *P. infestans* Isolaten mit besonderer Eignung als Muster **für diagnostische Zwecke** in der Selektion resistenter Kartoffeln und Tomaten und für die Forschung identifiziert. Diese Isolate werden in Sterilkultur erhalten.

**Z1.7.** Die Arbeiten im Projekt waren in **gesamteuropäische** Aktivitäten zur Vernetzung der *Phytophthora* Forschung eingebunden. Über Zwischenergebnisse wurde an Teilnehmer in der EU-concerted action **EUCABLIGHT** berichtet, unsere Erfahrungen sind in die Errichtung internationaler Datenbanken und vereinheitlichter Prüfverfahren eingeflossen. Diese EU-gemeinschaftlichen Bestrebungen werden im world wide web (<http://www.eucablight.org/EucaBlight.asp>) veröffentlicht.

## **Z2. Training**

In Arbeiten des gegenständlichen Projekts waren Schüler, Diplomstudenten und Doktoranden einbezogen. Sieben Schüler einer höheren technischen Lehranstalt erhielten Ausbildung auf dem Gebiet der Pflanzen-Molekularbiologie. Eine Diplomstudentin betrieb Forschung an molekularen Markern. Vier DissertantInnen forschten und arbeiteten in der molekularen Charakterisierung von Resistenz in Kartoffeln und von *P. infestans* und zwei Doktorarbeiten wurden bzw. werden direkt im Projekt erstellt.

## **Z3. Publikationen**

### **Internationale, begutachtete Journale (intl refereed journals)**

Trognitz BR and FC Trognitz (2004)

Increasing the efficiency of potato breeding through marker assisted selection—general thoughts. Molecular markers for late blight resistance—when applied for breeders? Plant Breeding and Seed Science 50: 95-105.

Trognitz FC and BR Trognitz (2005) Survey of resistance gene analogs in *Solanum caripense*, a relative of potato and tomato, and update on *R* gene genealogy. Mol Gen Genomics 274: 595-605.

Evers D., Schweitzer C., Nicot N., Gigliotti S., Herrera M.R.<sup>1</sup>, Hausman J.F., Hoffmann L., Trognitz B., Dommes J., Ghislain M. Two *PR-1* loci detected in the native cultivated potato *Solanum phureja* appear differentially expressed upon challenge by late blight Physiol Mol Plant Pathol, in press.

### **Publikationen in Internationalen Zeitschriften in Vorbereitung**

Friederike Ch. Trognitz, J. Nakitandwe, B. Trognitz. Segregation distortion depends on the direction of crossing two parental plants, as revealed on genetic maps of the wild diploid, *Solanum caripense*, source of resistance to late blight of potato and tomato. Theor Appl Genet, eingereicht.

Friederike Ch. Trognitz, J. Nakitandwe, B. Trognitz. Complex system of nuclear and cytoplasmic components determines broadband blight resistance in the wild *Solanum caripense*, as revealed by genetic mapping. Theor Appl Genet, eingereicht.

Friederike Ch. Trognitz, B. Trognitz. Time-dependent Activity of three Genes from *Solanum caripense* involved in R-gene Mediated Signaling of Resistance to the Potato Late Blight Pathogen is Transcriptionally Regulated. For submission to Mol Plant-Microbe Interact.

B. Trognitz, F.Ch. Trognitz, A. Grahl, A. Burg, F. Fuchs, J. Schmidt. Resistance to foliage late blight of a collection of potato landrace cultivars assessed via field trialing in Austria. For submission to Plant Breeding.

B. Trognitz, F.Ch. Trognitz, A. Themessl, M. Orrillo, I. Manrique, J. Huaccachi, J. Cruzado, A. Grahl, A. Burg. Detection of major resistance factors by segregation analysis and development of molecular markers for selection. For submission to Mol Plant Breeding.

B. Trognitz, F.Ch. Trognitz, M. Orrillo, I. Manrique, J. Huaccachi, J. Cruzado. Detection and genetic analysis of resistance to potato late blight in the wild, non-tuber-bearing *Solanum caripense*. For submission to The Plant J.



J. Avendaño, B. Trognitz, F. Ch. Trognitz, A. Grahl. Characterization of *P. infestans* from Austria throughout 2002-2005. For submission to Mol Plant Pathol.

J. Avendaño, B. Trognitz, F. Ch. Trognitz, A. Grahl. Genotypic changes of *P. infestans* within a field in Lower Austria as determined by host cultivar and time. For submission to Eur J Plant Pathol.

J. Avendaño, B. Trognitz, F. Ch. Trognitz. New molecular markers for *P. infestans* based on single nucleotide polymorphisms of three single-copy genes. For submission to Phytopathology.

### Poster

Trognitz BR, F Trognitz, M Tutkova, J Avendaño (2002) Sustainable resistance to late blight. 15<sup>th</sup> triennial conference of the EAPR, July 14-19, 2002, Hamburg, Germany. (Poster)

Trognitz FCh, Trognitz BR, Avendaño J (2003) Mapping genes involved in resistance to *Phytophthora infestans* in *Solanum caripense*. Proc. Breeding and adaptation of potatoes. EAPR-EUCARPIA, July 26-30 2003, Oulu, Finland: p. 52.

Trognitz FCh, Trognitz BR, Schmidt J (2003) Using wild *Solanum* species for the breeding of late blight resistant potato. Proc. Pflanzenbiotechnologie im Spannungsfeld von Forschung, Anwendung und fundamentaler Ablehnung, Sept 10-12 2003, Forschungsanstalt Geisenheim / Fachhochschule Wiesbaden, Geisenheim am Rhein: p. 59.

Avendaño-Córcoles J, Trognitz B, Trognitz F (2003) Characterisation of *Phytophthora infestans* populations from potato and tomato in Austria. Proc EUCABLIGHT Ann Meet, Oct 29-31, 2003, Dundee, Scotland.

Avendaño-Córcoles J (2003) Characterisation of *Phytophthora infestans* populations from potato and tomato in Austria. Report 6. Diplomanden-/Dissertantenseminar, December 3, 2003, ARC Seibersdorf research, Umweltforschung und Biotechnologie and Universität für Bodenkultur Wien, Inst Bodenforschung: p. 12.

Manrique, M Orrillo, L Portal, H Pinedo, B Trognitz. Chlamydospores, oospores, and mating type of *Phytophthora infestans* from Peru. European Association for Potato Research, Pathology Section Meeting, Lille, France, 11-16 July, 2004.

B Trognitz, I Manrique, M Orrillo, L Portal, R Cabello, M Upadhya. Light intensity and photoperiod are key factors for race-nonspecific resistance of potato foliage to late blight. European Association for Potato Research, Pathology Section Meeting, Lille, France, 11-16 July, 2004.

J Avendaño Corcoles, B Trognitz. *Phytophthora infestans* populations in Austria, the 2002 situation. European Association for Potato Research, Pathology Section Meeting, Lille, France, 11-16 July, 2004.

Avendaño-Córcoles J (2004) Survey of *Phytophthora infestans* in Austria. In: 1. Diplomanden/ Dissertantenseminar des Bereiches Biogenetics Natural Resources and 7. Diplomanden/ Dissertantenseminar des Geschäftsfeldes Umweltforschung. University of Natural Resources & Applied Life Sciences, Vienna, 17 November, 2004, p. 14-15.

Trognitz F and B Trognitz (2004)

Mapping genes of *Solanum caripense* involved in resistance to *Phytophthora infestans*, the causal agent of potato late blight. In: Genetic Variation for Plant Breeding. Proc. 17th EUCARPIA General Congress, 8-11 September 2004, Tulln, Austria. Editors: J. Vollmann, H. Grausgruber and P. Ruckebauer, BOKU–University of Natural Resources and Applied Life Sciences, Vienna Gregor Mendel Str. 33, 1180 Vienna, Austria: Poster Nr. 111.

Friederike Ch. Trognitz, Agnes Burg, Toni Grahl, Bodo Trognitz (2004) Diversity of resistance genes, their analogs, and genes involved in plant-microbe interactions. In: Proc. 1<sup>st</sup> Solanaceae Genome Workshop, Sept. 19-21, 2004, Wageningen, The Netherlands. A meeting by the Intl. Solanaceae Genome Sequencing Consortium (PGSC): P9-22. ( <http://www.solanaceae2004.org/> )

Trognitz, F., Nakitandwe, J., Trognitz, B. Genetic components of resistance to late blight in *Solanum caripense*-current status. Proceedings: 16<sup>th</sup> Triennial conference of the EAPR 2005, July 17-22, p. 808-811.

Trognitz, F., Trognitz, B., Schmidt, J. (2005) Genomical survey of the relationship between the potato's response to photoperiod, vegetative period, and late blight resistance. Proceedings: 16<sup>th</sup> Triennial conference of the EAPR 2005, July 17-22, p. 625-627.

Trognitz, F. and Trognitz, B. (2005) Time-dependent activity of three genes from *Solanum caripense* involved in R-gene mediated signaling of resistance to the potato late blight pathogen is transcriptionally regulated. Proceedings: 16<sup>th</sup> Triennial conference of the EAPR 2005, July 17-22, p. 465-468.

Avendaño-Córcoles, J., Trognitz, BR. Trognitz, F. (2005) Three year study of *Phytophthora infestans* populations in Austria, a contribution to EUCABLIGHT. Proceedings: 16<sup>th</sup> Triennial conference of the EAPR 2005, July 17-22, p. 860-861.

Nakitandwe J., B. Trognitz & F. Trognitz (2005). Resistance to potato late blight detected in a wild potato genetic resource, *Solanum caripense*: preliminary results, XVII International Botanical Congress, Vienna, Austria Center, 17 – 23 July 2005.

### **Vorträge**

Avendaño-Córcoles J (2003) Molecular characterization and analysis of plant resistance to late blight and of the causal pathogen, *Phytophthora infestans*. Diplomanden- und Dissertantenseminar, April 1, 2003, Inst Forstentomologie, Forstpathologie & Forstschutz (BOKU).

Trognitz FCh (2003) Mapping resistance genes involved in resistance to *Phytophthora infestans* in *Solanum caripense*. Report 6. Diplomanden-/Dissertantenseminar, December 3, 2003, ARC Seibersdorf research, Umweltforschung und Biotechnologie and Universität für Bodenkultur Wien, Inst Bodenforschung: p. 8.

Trognitz B, L Portal, I Manrique, M Orrillo (2004) Evaluation of bioassays to detect avirulence of *Phytophthora infestans* isolates. European Association for Potato Research, Pathology Section Meeting, Lille, France, 11-16 July, 2004.

Avendaño-Córcoles J (2004) Molecular characterization and analysis of plant resistance to late blight and of the causal pathogen, *Phytophthora infestans*. Dissertanten-Seminar, SS 2004. Institute of Forest Entomology, Forest Pathology & Forest Protection. University of Natural Resources & Applied Life Sciences, Vienna, 27 April, 2004

Avendaño-Córcoles J., 2005. Vorkommen besonderer, abgegrenzter *Phytophthora*-Populationen. Kartoffelbau-Warndienst für das Weinviertel 2005, Korneuburg, 21. 3. 2005.

Avendaño-Córcoles J., 2005. Ergebnisse der Untersuchungen von Krautfäuleproben aus dem Warndienst-Monitoring 2004, unterschiedliche *Phytophthora*-Populationen, Paarungstypen und Erregerrassen; Kartoffelbau-Warndienst für das Waldviertel 2005, Vitis, 10. 5. 2005.

Avendaño-Córcoles J., Trognitz F. and Trognitz B. (2005). First SSR results of *Phytophthora infestans* populations in Austria (2002-2004). Eucablight TG2 Pathogen Workshop, Wageningen, NL, 7-9th December, 2005.

### **Plenarvorträge**

Trognitz B (2003) Late blight research at ARC, Austria. EUCABLIGHT 1<sup>st</sup> Ann Meet Central European Group, June 9-10, Plant Breeding and Acclimatization Inst, Młochów, Poland

Trognitz BR (2003) Sources and mechanisms of resistance to late blight. EUCABLIGHT Ann Meet, Oct 29-31, 2003, Dundee, Scotland.

Trognitz F. and B. Trognitz (2005). Time dependent activity of five genes from *Solanum caripense* involved in R-gene mediated signaling of resistance to potato late blight pathogen is transcriptionally regulated; University College Dublin, Dept. Environmental Resource Management, Dublin, 30.6.2005.

### **Andere Publikationen und Aktivitäten zur Verbreitung der Projektergebnisse**

Alexandra Themessl (2004) Molecular markers for resistance factors in a potato population. Diplomarbeit zur Erlangung des akademischen Grades Magistra *rer. nat.* an der Fakultät für Naturwissenschaften und Mathematik der Universität Wien, Institut für Ernährungswissenschaften und ARC Research GmbH Seibersdorf, Betreuer Univ.-Prof. Dr. I. Elmadfa, 60 pp.

[Trognitz, Friederike Christiane](http://magnum.biby.ac.at/ALEPH/-/ext-find?base=ACC01&find=IDN=AC04118996) (2004) Genetic and molecular characterization of late blight resistance in *Solanum caripense*. Dissertation *Res. nat. techn.*, BOKU, Wien, 127pp.

<http://magnum.biby.ac.at/ALEPH/-/ext-find?base=ACC01&find=IDN=AC04118996>

Avendaño J. Survey of *Phytophthora infestans* populations in Austria. Dissertation *Res. nat. techn.*, BOKU, Wien, in Vorbereitung.

Nakitandwe J. Molecular characterization and cloning of genes involved in defense against *Phytophthora infestans* and development of molecular markers for marker assisted selection and for tools in plant genomics. Teil einer Dissertation *Res. nat. techn.*, BOKU, Wien, in Erarbeitung.

Armanious H. A. H. Analysis of gene variants involved in the potato's late blight resistance. Teil einer Dissertation, El Minia Univ., Ägypten, in Erarbeitung.

Trognitz F (2004) Construction of genetic linkage maps in plants. Seminar in: Workshop on "DNA marker techniques for mutated germplasm characterization and marker-assisted selection" at IAEA plant breeding Unit, Seibersdorf, 20.10.04.

### **Fernsehinterview**

Über molekulare Resistenzgenetik der Pflanzen und markerassistierte Selektion.

ZIB3 Redaktion, ORF, 1. September 2003. Gesendet im November 2003

Konrad Steiner, Lehrer an der HBLA Ursprung, Salzburg (2004, 2005): Schüler unterstützen Wissenschaftler, Untersuchung der Krautfäule der Kartoffel. Artikel in 40 Zeitungen und Zeitschriften in Österreich.

#### **Z4. Im Projekt geschaffene Ausgangspunkte für weiterführende Forschung und Entwicklung**

Im Projekt wurden wichtige materielle und informelle Grundlagen für weiterführende Forschung geschaffen. Spaltende Populationen mit spezifischen, wertvollen Resistenzfaktoren, isolierte Genfragmente und molekulare Marker, Techniken und Methoden einschliesslich real-time PCR für Genexpressionsmuster, Information über die Populationsgenetik und einzelne Gene von *P. infestans* sowie Isolate dieses Organismus, die für Resistenzprüfungen und biologische Tests verwendet werden, sowie geografische Karten über die Verbreitung der *P. infestans* Populationen in Österreich.

#### **Z5. Direkte Folgeprojekte**

**Z5.1.** Exploitation of natural plant biodiversity for the pesticide-free production of food (BIOEXPLOIT), Integrated Project zur Erforschung und Überleitung von Resistenz in wichtigen Kulturpflanzen, finanziert von EU, 6. Rahmenprogramm. Ziele sind Entwicklungsarbeit von molekularen Markern für Resistenzgene in Kartoffel, Nutzung von Genressourcen, Grundlagenforschung an Resistenz und Pathogenität.

**Z5.2.** Genomic analysis of the effect of photoperiod on late blight resistance in potato. ARC-sr Kooperationsprojekt mit CIP. Ziele sind die Untersuchung mit genomischen Methoden unter Verwendung von Gensonden und Genfragmenten, Ergebnissen des Experiments zum Einfluss von Licht.

#### **Z6. Themenkomplexe, die weiterer Bearbeitung bedürfen, Sponsoren müssen noch gefunden werden**

1. Weiterentwicklung der Markertechnologie für den Einsatz in Kartoffelresistenzzüchtung.
2. Nutzung aller detektierten Resistenzgen-Ausgangsmaterialien in Vorzuchtungsprogrammen zur Unterstützung der Züchter. Verstärkte Analyse der einzelnen Resistenzen, ihrer Vererbung und Entwicklung von spezifischen Markern.
3. Weitere Suche nach neuen *Phytophthora*-Resistenz-Quellen, Ausbildung von Züchternachwuchs.
4. Entwicklung von Methoden der Fungizidreduktion und Produktion nach biologischen Richtlinien.
5. Fortsetzung der systematischen Beobachtung der *Phytophthora*-Populationen und ihrer Migrationen.
6. Erforschung molekularer Resistenzmechanismen und der Wege ihrer Beeinflussung.

## **Bericht über die Arbeiten im Jahr 2005**

Die Abarbeitung des Arbeitsprogramms 2005 erfolgte gemäss dem im Projektantrag dargelegten Plan und beinhaltete die im Folgenden aufgeführten zentralen Punkte.

### 0. Feldversuche 2005, Übersicht, generelle Methoden

1. Experiment zur Wirkung von Resistenz auf die Reduktion von Fungizid.
2. Feldversuche zur Spaltung von *Phytophthora* Resistenz in einer Kreuzungsnachkommenschaft.
3. Glashaus- und Labortests zur Feststellung der genetischen Spaltung von Resistenz in Kreuzungsnachkommenschaften.
4. Auswahl zusätzlicher segregierender Kreuzungsnachkommenschaften zur Entwicklung und Testung von molekularen Resistenzmarkern in Folgeprojekten.
5. Glashaustest zur Detektion der Wirkung von Licht auf die Resistenz.
6. Einkreuzung von Resistenzen in österreichische Zuchtklone.
7. *Phytophthora infestans* Monitoring in Österreich.

### **0. Feldversuche 2005, Übersicht, generelle Methoden**

Die Arbeiten (Abb. 1.1) wurden zusammen mit der NÖS durchgeführt. Auf einem Feldstück waren vier Versuche untergebracht, alle Versuche wurden am 25. Mai gepflanzt, die Versuchsmaterialien wurden als Jungpflanzen bzw. als Knollen (Kontrollen und Standardsorten) eingesetzt. Das Feld hatte die üblichen Düngergaben entsprechend den Massgaben der NÖS vor der Pflanzung erhalten. Die Versuche umfassten 1) die Evaluierung der Resistenz von 80 repräsentativen Genotypen aus der frei spaltenden Kreuzungspopulation MF-IIxTPS67, 2) *P. infestans* Rassenmonitoring im Feld unter Verwendung der Kartoffel-R-Gen-Differentiale, 3) ein Experiment zur Auswirkung verringerter Fungizidapplikation im Zusammenhang mit hoher Krautfäuleresistenz, und 4) ein Experiment zur Möglichkeit der Detektion von rassenbedingter Resistenz bei freier Infektion im Feld an sechs unselektierten Kreuzungspopulationen (Spaltungsbeobachtungen). Die Pflanzenbestände wurden den üblichen Massnahmen zur Bekämpfung von Schädlingen unterzogen, Fungizide wurden nur im Rahmen des Versuchs 3) appliziert, dieser Versuch war deshalb an einem Ende des Feldstücks angelegt, um Abdrift und andere Fungizideinwirkung auf die übrigen Versuche auszuschliessen. Symptome der Krautfäule traten wie schon 2004 relativ spät, zuerst um den 25. Juli an den besonders anfälligen Kontrollsorten Evita, Linzer Delikatess und Naglerner Kipfler auf (Erstaufreten 2004 am 20. Juli beobachtet). Die relativ späte Erstinfektion 2005 ist sicherlich das Ergebnis des überdurchschnittlich kühlen und trockenen Frühsommers. Mehrere Bonituren wurden durchgeführt, deren Zeitpunkte sich aus dem Zusammenhang mit dem Infektionsverlauf und der Witterung ergaben. Im Gegensatz zu 2004 konnte sich die Krankheit durchgehend entfalten, eine Stagnation durch besonders trockene oder kalte Witterung trat im Versuchsfeld nicht auf und dieser gleichmässige Epidemieverlauf erhöhte die Verlässlichkeit der gewonnenen Daten.

Die einzelnen Feldversuche werden im Folgenden kurz beschrieben, entsprechende Publikationen in Fachzeitschriften sind in Vorbereitung.

## 1. Auswirkung verringerter Fungizidapplikation bei hoher Krautfäuleresistenz

### Präambel

Wir haben 2005 dieselbe Versuchsanlage und dieselben Sorten und Zuchtstämme wie 2004 verwendet. Da 2004 leider zuwenig und unregelmässiger Befall aufgetreten war (vgl. Bericht 2004), soll der einjährige Versuch 2005 hier isoliert beschrieben werden.

Da solche Versuche zum Vergleich konventioneller mit ökologisch möglicherweise schonenderen Verfahren unerlässlich und in der Zukunft häufiger notwendig sind, bleibt zu hoffen, dass unsere Versuchsreihe in den kommenden Jahren mit den alten und neuen Partnern fortgesetzt wird, und dass dann mehrjährig relevante Beobachtungen generiert werden. Der Aspekt der Quantifizierung der möglichen Einsparungen an Fungizidaufwendungen durch Nutzung verstärkter genetischer Resistenz ist von besonderer Relevanz für den Einsatz moderner biologischer Anbauverfahren.

### Material und Methoden

Ein Versuch mit drei Behandlungsstufen (unbehandelt, reduzierte Spritzfolge mit einer präventiven Spritzung am 7. Juli, sowie vollständige Spritzfolge von 6 Applikationen) an 18 Sorten und Zuchtstämmen (Tabelle 1.3.1) in je zwei Wiederholungen mit Parzellen von 10 Pflanzen wurde durchgeführt (vgl. Abb. 1.2).

Tabelle 1.3.1. Sorten und Zuchtstämme im Fungizidreduktionsversuch 2005.

Sorte/Stamm	Ursprung	<i>Phytophthora</i> -Resistenz	Reifegruppe, Kommentar
AL-624	CIP	Hoch	spätreif, Kurztag-angepasst
Atzimba	CIP	Hoch	spätreif, Kurztag-angepasst
Bionta	NÖS	Hoch	Mittelspät
CEK-69-1	CIP	Hoch	Spat
CUP-199	CIP	Hoch	Spat
DGV-108	CIP	Mittel	mittelspät, evtl. polnische Herkunft
Evita	NÖS	Niedrig	sehr früh
Ingabire	CIP	Hoch	Mittelspät
K123.100	dieses Projekt	Hoch	Mittel
K123.191	dieses Projekt	Hoch	Mittel
Linzer Delikatess	NÖS	Niedrig	sehr früh
Naglerner Kipfler	NÖS	Niedrig	Mittel
Kuras	Holland	Hoch	spätreif, Stärkesorte
Mex-750838	CIP	Hoch	sehr spät, Kurztag-angepasst
MF-II	CIP	Mittel	indischer Zuchtstamm, von W. Black's Züchtungen abstammend, besitzt R <sub>M</sub> Faktor für Resistenz
Sogo Condor	CIP	Hoch	sehr spät, Kurztag
TPS-13	CIP	mittel-hoch	True Potato Seed Elter, <i>S. andigena</i> , Kurztag
TPS-67	CIP	Hoch	True Potato Seed Elter, <i>S. andigena</i> , Kurztag, besitzt R <sub>T</sub> Faktor f. Resistenz

Der zwar späte, doch kontinuierliche Epidemieverlauf (wir fanden erste Symptome an der anfälligen Kontrollsorte Naglerner Kipfler am 25. Juli) gestattete die Beobachtung aller Kontraste. In der Variante mit 6 Spritzungen wurde das Schema aus Tabelle 1.3.2 angewendet.

Tabelle 1.3.2. Fungizidapplikationen in der Vollbehandlungsvariante des Fungizidversuchs, Meires 2005.

Applikation	Mittel	Wirkungsweise	Datum	Zusammenhang mit <i>P. infestans</i>
1	Ridomil	Systemisch	30. Juni	vor Erstaufreten im Feld
2	Akrobat	Kontakt	7. Juli	vor Erstaufreten im Feld
3	Winner+Dithane	Kontakt	15. Juli	vor Erstaufreten im Feld
4	Winner+Dithane	Kontakt	21. Juli	zeitgleich mit Erstaufreten
5	Ranman	Kontakt	3. August	während linearem Befallsanstieg
6	Dithane	Kontakt	11. August	während linearem Befallsanstieg

*Phytophthora*-Befall wurde am Laub viermal bonitiert, Laubreife einmal an den Varianten ohne und mit reduzierter Fungizidapplikation und ebenfalls viermal in der voll geschützten Variante, sowie der Befall der Knollen zur Ernte. Die für lokale Einflüsse korrigierten Daten wurden zweifaktoriellen Varianzanalysen (Sorten, Behandlungen, jeweils zufällige Effekte) unterzogen. Prozentuale Befallsnoten wurden  $\log(\arcsin)$ -transformiert.

### Ergebnisse und Diskussion

Die Befallsausprägung war ausreichend stark, um gesicherte Unterschiede zwischen Sorten und Behandlungsstufen festzustellen. In den Tabellen 1.3.3 und 1.3.4 sind die Ergebnisse einer Varianzanalyse und Mittelwertvergleiche wiedergegeben.

Tabelle 1.3.3. Varianzanalyse, Versuch mit 3 abgestuften Fungizidapplikationen an 11 Genesourcen, 2 Zuchtstämmen und 5 Kontrollsorten. Analytierte Variable: Mittelwert<sup>1</sup> des Krautfäulebefalls über die letzten drei Bonituren (mit der höchsten Heritabilität).

Source	FG	SS	MS	F-Wert	P>F
Model	54	2.559	0.0474	10.55	0.0001
Error	53	0.238	0.00449		
Corrected Total	107	2.79778			
Source	FG	Type III SS	MS	F-Wert	P>F
SORTE	17	0.805	0.047	10.54	0.0001
BEH	2	1.51	0.75	168.04	0.0001
BEH*SORTE	34	0.24	0.0071	1.59	0.0647
Wdh.	1	0.0034	0.0034	0.77	0.3846
<b>R<sup>2</sup></b>	<b>C.V.</b>				
0.91	3.19				

<sup>1</sup> Der Mittelwert ist hochsignifikant mit dem AUDPC korreliert ( $r=0.94-0.99$ ), deshalb sind die Ergebnisse gleichbedeutend mit Ergebnissen unter Verwendung des AUDPC.

Tabelle 1.3.4. Multipler Mittelwertvergleich der drei Behandlungsvarianten. Unterschiedliche Buchstaben bezeichnen signifikant voneinander abweichende Mittelwerte.

Behandlung		Mittelwert Befall(%)
Unbehandelt	A	84.2
1 Fungizidapplikation	B	75.3
6 Fungizidapplikationen	C	46.2

Die unbehandelte Variante war nur geringfügig stärker befallen als die einmalig gespritzte, aber doppelt so stark wie die voll behandelte Variante. In letzterer ist sicher ein wesentlicher Teil des als Krautfäule bonitierten schadhafte Laubes tatsächlich durch Abreife und andere Alterserscheinungen, aber nicht von *Phytophthora* geschädigt worden. Der perfekte Schutz durch die sechs Fungizidapplikationen (von denen nur die 4 letzten im Zeitraum des Auftretens der Krankheit lagen) wird auch durch die Tatsache verdeutlicht, dass kranke Knollen zur Ernte nur in den unbehandelten bzw. geringfügig behandelten Parzellen gefunden wurden (nicht gezeigt).

Die einfache Spritzung bewirkte im Durchschnitt über die 10 resistenteren Sorten eine Reduktion des Befalls um 11% (68.5% gegenüber 76.8% Totalbefall).

Die Behandlung der einmalig gespritzten Stufe war fast vier Wochen vor der Detektion von Erstbefall in unserem Feld erfolgt. Diese Behandlung, die den allgemeinen Empfehlungen und Richtlinien in der Pflanzgutproduktion folgte, war sicher viel zu früh und unnötig. Selbst unter der Annahme, dass unsere Erstdetektion von Symptomen ein oder zwei Wochen nach der tatsächlichen Erstinfektion lag, waren die erste und auch die zweite Spritzung in dieser konkreten Situation zu früh angesetzt. Die Wirkung der ersten Spritzung ist durch die gute Verweilfähigkeit des systemischen Fungizids in Verbindung mit der trockenen und kühlen Witterung begründbar. Wenn die Applikation in der 1x-Variante später erfolgt wäre, hätte sie möglicherweise einen weitaus grösseren Effekt auf die Unterdrückung der Infektion gehabt. Dieses war 2004 der Fall, einmalige Spritzung brachte damals 25% weniger Befall gegenüber der unbehandelten Stufe. 2004 war aber leider kein gutes Versuchsjahr infolge des untypischen Verlaufs der Epidemie (s. Bericht 2004).

Abbildung 1.3 macht die Auswirkung der Fungizidapplikation auf Sorten mit verschiedenem Resistenzniveau deutlich. Bei geringem Schutz, das entspricht in unserem Versuch der Variante mit einmaliger Applikation, profitieren die resistenteren Sorten (auf der linken Seite der Grafik) am meisten. Leider war die Applikation zu früh erfolgt, so dass zum Zeitpunkt des hohen Infektionsdrucks nur mehr wenig Wirkung des Fungizids zu erwarten war.

### **Schätzung der tatsächlichen Reifezeit der Probanden ohne Beeinflussung durch Krankheit**

Die durch sechs Applikationen voll geschützte Behandlungsstufe erbrachte als Zusatzergebnis eine unverfälschte Aussage über die Reifegruppenzugehörigkeit der Sorten und Stämme (Tabellen 1.3.5 und 1.3.6, Abbildung 1.4). Der Verjüngungseffekt von Fungizidapplikation war schon im Vorjahr sichtbar geworden (vgl. Bericht 2004). In 2005 führte der mittelstarke Fäulebefall zu frühzeitigem Absterben in ungeschützten Beständen. In jenen wären die anfälligen Sorten um 10-30 Tage früher reifend und die resistenten Sorten auch immerhin um 7 bis 14 Tage früher reifend eingeschätzt worden. Die Überlagerung der Effekte von Resistenz und Reifezeit führt also zu einer unvermeidlichen Verzerrung bei der Bewertung der Resistenz.



Tabelle 1.3.5. Varianzanalyse, Versuch mit 3 abgestuften Fungizidapplikationen an 11 Genressourcen, 2 Zuchtstämmen und 5 Kontrollsorten. Analyisierte Variable: Reifegrad der Stämme, ermittelt durch Beurteilung der Laubentwicklung, Blüte und Knollenbildung in der Behandlungsstufe der vollkommenen Protektion (6 Fungizidapplikationen).

Source	FG	SS	MS	F-Wert	P>F
Model	18	52.667	2.9259	8.40	0.0001
Error	17	5.922	0.3483		
Corrected Total	35	58.590			
Source	FG	Type III SS	MS	F-Wert	P>F
SORTE	17	51.530	3.03117	8.70	0.0001
Wdh.	1	1.13778	1.13778	3.27	0.0885
R <sup>2</sup>	C.V.				
0.898	18.54				

Tabelle 1.3.6. Reifegrad (Vegetationsperiode) der Sorten unter Ausschluss von *Phytophthora* (sechsfache Spritzung). Bonitur: 1, sehr spät (>150 Tage), 2, spät (130-150 Tage), 3, mittelspät (120-130 Tage), 4 mittelfrüh (110-120 Tage), 5, früh (bis 110 Tage).

---

Waller-Duncan K-ratio T test  
 Kratio= 100 df= 17 MSE= 0.348366 F= 8.701126  
 Critical Value of T= 2.06266  
 Minimum Significant Difference= 1.2174  
 Means with the same letter are not significantly different.

---

Waller Grouping	Mean	SORTE
A	5.1500	Kipfler
B A	5.0000	Delikatess
B A	4.9000	DGV-108
B A C	4.8000	Evita
B D A C	4.1000	CEK-69-1
B D C	3.8000	K123.100
D E C	3.6000	MF-II
D E	3.4500	Atzimba
F D E	3.0000	Kuras
F D E	2.9500	Bionta
F D E	2.9000	TPS-67
F E G	2.4000	TPS-13
F G	2.1500	Cup-199
F G	2.0500	Mex-750838
F G	2.0500	Ingabire
F G	2.0500	AL-624
G	1.6000	K123.191
G	1.3500	Sogo Condor

---

### Schlussfolgerungen

Der Fungizidreduktionsversuch hat wichtige Aussagen ermöglicht über den zu erwartenden Beitrag, den genetische Resistenz zur Kontrolle der Krankheit zu leisten imstande ist. Bei gutem timing (nicht zu früh beginnen) könnten ein bis zwei Applikationen am Anfang ausreichen für einen optimalen Schutz der Kulturen. Wir haben diesbezüglich die Wahl des Wirkstoffs und seine Konzentration noch nicht untersucht. Diese Art von Versuchen sollte unbedingt fortgesetzt werden, denn für die Aufwandsreduktion im konventionellen Kartoffelbau sowie für die optimale Produktion unter biologischen, ökologisch verträglichen Verfahren kann Resistenz von großem Nutzen und Kostenersparnis sein, wenn sie adäquat eingesetzt wird. Jedoch ist die Verwendung resistenter Sorten allein, ohne begleitende

Beobachtung der *Phytophthora*-Entwicklung und Bestandsführungsmaßnahmen nicht zielführend.

Da hohe Resistenzniveaus häufig mit Spätreife assoziiert sind, bleibt für die Züchtung weiterhin die Aufgabe, geeignete Resistenzfaktoren mit früherer Reife zu kombinieren.

Zusätzlich wurde ersichtlich, dass sich solche Versuche auch sehr gut zur Überprüfung der richtigen Wahl der Fungizidapplikationen eignen. Solange im Feld noch keine *Phytophthora* aufgetreten ist, sind keine Unterschiede zwischen gespritzten und unbehandelten Varianten vorhanden. Die Einbeziehung von unbehandelten Parzellen in einem Versuchsfeld könnte deshalb auch zur Validierung von Fungizidapplikationsschemata nach verschiedenen Richtlinien (etwa regionale und lokale Warndienste, Modellierung oder Erfahrung) benutzt werden.

## **2. Feldversuche zur Spaltung von *Phytophthora* Resistenz in der Kreuzungspopulation MF-IIxTPS67 und Auswirkung von Resistenzfaktoren auf den Infektionsgrad im Feld in Meires 2005**

### **Material und Methoden**

Von der Population MF-IIxTPS67 mit insgesamt 200 Individuen wurden nur mehr 80 Individuen ausgewählt und einer Prüfung unterzogen. Die Auswahl erfolgte nach den Ergebnissen der vorhergehenden Phänotypenanalysen im Labor (vgl. Bericht 2004 und Punkt 3, unten) repräsentativ für drei Resistenz-Genotypen. Die Genotypen sind: resistent basierend auf Faktor  $R_T$  (stammt aus Elter TPS67; 30 Vertreter, die nur  $R_T$  oder  $R_M R_T$  kombiniert haben) oder auf Faktor  $R_M$  (aus MF-II; 30 Vertreter) und anfällig (weder  $R_M$  noch  $R_T$ ; 20 Vertreter). Ebenfalls einbezogen wurden die Eltern der Population, MF-II und TPS67, sowie Kontrollsorten für verschiedene Resistenzgrade, Bionta (mittelspät, resistent), Linzer Delikatess und Evita (früh-mittelfrüh, stark anfällig), sowie Kuras (spät, sehr resistent). Die Pflanzen wurden aus gesunden Beständen durch Stecklinge vermehrt und in einer randomisierten 4-Block-Anlage in Miniparzellen zu je 5 Einzelstauden der freien Infektion im Feld überlassen. Nachdem um den 25. Juli Erstbefall sichtbar wurde, erfolgten 4 Bonituren der Laubresistenz, sowie eine Bonitur der Reifegruppe am Laub. Zur Ernte wurde der Befallsgrad der Knollen als prozentualer Anteil befallener Knollen je Parzelle geschätzt. Die *Statistische Auswertung* (Varianzanalysen, Mittelwertvergleiche, Korrelationen, Histogramme) erfolgte mit den schon 2001-2004 angewandten, bewährten Verfahren. Die komplette mehrjährige Analyse ist noch nicht abgeschlossen. Die Boniturdaten wurden vor der Analyse für nicht kontrollierte örtliche Einflüsse aus den Gegebenheiten des Versuchsfeldes korrigiert.

### **Ergebnisse**

Wie schon im Vorjahr waren im Feld leider Rassen vorhanden, die beide in der Population vorhandenen Resistenzfaktoren ( $R_M$  und  $R_T$ ) sowie ihre Kombination ( $R_M R_T$ ) befallen konnten. Das betrifft auch den Faktor  $R_T$ , der seine Trägersorte, TPS67, zu einer der resistentesten Vertreter der Welt-Genressourcen macht. Jedoch, obwohl alle Genotypen von *Phytophthora* befallen wurden, waren gesicherte Unterschiede im Befallsgrad feststellbar, die vom vorhandenen Resistenzfaktor abhingen (Abbildung 2.1). Die 30 Nachkommen, die den Genotyp  $R_T$  repräsentieren, hatten im Durchschnitt um 11% weniger befallenes Kraut als die 20 genetisch anfälligen Genotypen. Das entspricht Ende August einem um ein Viertel verringerten Befallsgrad gegenüber den genetisch anfälligen Nachkommen (Träger keiner Resistenzfaktoren), erstere ( $R_T$ ) wiesen am 28. August 41% befallenes Kraut auf, während die

Anfälligen im Mittel zu 57% befallen waren. Aufgrund der begrenzten Differentiation durch verfügbare Rassen konnte in der Gruppe der Genotypen mit  $R_T$  nicht zwischen Trägern nur dieses Faktors ( $R_T$ ) und Trägern beider Faktoren ( $R_M R_T$ ) unterschieden werden. Möglicherweise sind Träger der Kombination die am wenigsten befallenen Pflanzen. Das geht daraus hervor, dass der Faktor  $R_M$  allein durchschnittlich 5% geringeren Befall im Vergleich zu den anfälligen Genotypen aufwies.

Die Individuen der Population wiesen einen mittelgrossen Streubereich von Befallsgraden auf (Abb. 2.2 und 2.3), die Mehrzahl der Nachkommen liegt im Bereich des anfälligeren Elters MF-II, einige näherten sich dem Resistenzniveau des resistenteren Elters TPS67. Aus Abbildung 2.3 wird ersichtlich, dass Nachkommen mit  $R_T$  häufiger im linken Teil der Verteilung zu finden sind und also durchgehend höhere Resistenzgrade haben.

### **Diskussion, Schlussfolgerungen**

Beide Eltern der Population MF-IIxTPS67 waren anfällig in den Feldversuchen, obwohl TPS67 in Infektionsversuchen im Labor nur von einem Teil der getesteten *P. infestans* Isolate aus Österreich befallen wurde (vgl. Laborscreening, Punkt 3, unten). Es muss deshalb davon ausgegangen werden, dass die Populationen des Erregers im Feld bei Meires (Waldviertel) von vornherein Virulenz für den unbekanntem und nicht im klassischen Zuchtmaterial enthaltenen Resistenzfaktor besitzen. Im Gegensatz zu 2004 war 2005 eine vom Genotyp signifikant beeinflusste Abstufung in der Krautfäuleausprägung vorhanden (Abb. 2.1), die für den Nutzen der Resistenzfaktoren  $R_M$  und  $R_T$  sprechen, auch wenn ihre Immunitätswirkung von Rassen überwunden wird. Die tetraploide, hochgradig heterozygote und inzucht empfindliche Kartoffel kann nicht für genetische Untersuchungen, wie sie an homozygoten und selbstkompatiblen Pflanzen üblich sind, herangezogen werden. Deshalb ist die Beobachtung des durchschnittlichen Verhaltens einer Vielzahl von Individuen, die in einzelnen detektierbaren Faktoren übereinstimmen, vor dem einheitlichen genetischen Hintergrund innerhalb einer Kreuzungspopulation, wie im vorliegenden Fall, eine angemessene Alternative. Der Faktor  $R_T$  aus der Quelle TPS67 lieferte den größten Beitrag zur graduellen Reduktion der Krankheit. Verminderte Anfälligkeit im Gegensatz zu perfekter Immunität kann u. U. auch von intakten Resistenzfaktoren hervorgebracht werden, zum Beispiel verursacht eine universell avirulente Rasse (Nullrasse) auf den klassischen R-Gen-Differentialen R2 und R4 gelegentlich kleine Läsionen.

Der Reifegrad wurde an denselben Pflanzen bonitiert und diese Daten waren erwartungsgemäss mit den Resistenzbonituren korreliert, d.h., resistenterer Individuen hatten die spätere Reife. Da anfälligerer Typen in ihrer Entwicklung weiter fortgeschritten erscheinen, und da spätreife Typen in der Regel höher resistent sind, ist es nicht sinnvoll, Reifegradbestimmungen an ungeschütztem, der *Phytophthora* ausgesetztem Material vorzunehmen. Für die sichere Bestimmung der Reifegruppe muss unbedingt Krankheitsinfektion ausgeschlossen werden. Andererseits belegt diese Beobachtung, dass auch Anteile der Symptome, die der *Phytophthora* zugeschrieben werden, sicherlich Symptome der fortschreitenden physiologischen Entwicklung und des natürlichen Verfalls der Blätter und Stengel sind. Die Grösse dieses Anteils sollte aus Versuchen mit Fungizidprotektion erhalten werden können. Wir haben einen solchen Vergleich im oben angeführten Experiment zur Ergänzung von Fungizidapplikation mit natürlicher Resistenz unternommen.

Die Population MF-IIxTPS67 mit den hier gewonnenen Informationen über Genotyp, Spaltung und Resistenzverhalten wird in einem Folgeprojekt, „Bioexploit“, Integrated Project, EU-finanziert, weiter bearbeitet.

### 3. Glashaus- und Labortests zur Bestimmung der genetischen Spaltung von Resistenz

Es war notwendig geworden, die vorläufigen Ergebnisse der Phänotypisierung der in der Population MF-IIxTPS67 spaltenden Resistenzfaktoren aus dem Jahr 2004 mit Hilfe geeigneter Isolate von *P. infestans* zu konsolidieren. Zu dem Zweck wurden detached leaflet tests (Blättchen-Bioassay, DTL) mit drei Isolaten wiederholt. Die Isolate Nullrasse (zur Verfügung gestellt durch Dr. W. Flier, Wageningen Univ., Holland), U10 und LL8 (aus Mustern von Pflanzen aus Österreich isoliert, dieses Projekt) wurden auf Roggen-Agar erhalten und auf Knollengewebe der Sorte Naglerner Kipfler zur Sporangienproduktion gebracht, mit Sporangien wurden Fiederblättchen inokuliert. Der Befallsgrad wurde nach 4-7 Tagen mit den Kriterien Sporulationsgrad, befallene Blattfläche, Vergilbung und Nekrose ermittelt. Von allen Kriterien erwies sich Sporulationsgrad als reproduzierbar und aufgrund der gefundenen Abstufungen geeignet zur Differenzierung der Pflanzen. Alle Isolate verursachten die Bildung sehr großer Läsionen auf den Fiederblättchen fast aller Nachkommen der Kreuzung. Deshalb ist die Schlussfolgerung naheliegend, dass die Resistenzfaktoren beider Elternsorten spezifisch zur Verminderung der Sporenbildung des Erregers beitragen, womit die Gefahr der Neuinfektion gesunder Bestände verringert wird. Mit den zusätzlichen Prüfungen war es möglich, den jeweils wahrscheinlichen Resistenz-Genotyp, besser als im Jahr 2004, für 91% der Mitglieder der experimentellen Population mit insgesamt knapp 200 Nachkommen zuzuordnen (Tabelle 3.1). Mit dieser zusätzlichen Information konnten 80 individuelle Nachkommen bestimmt werden, die aufgrund ihres gesicherten wahrscheinlichsten Resistenz-Genotyps für den abschließenden Feldtest prädestiniert waren. Die Ergebnisse des Feldtests bestätigten das dann auch (s. Punkt 2, oben).

Tabelle 3.1. Zuordnung von Nachkommen der Kreuzung MF-IIxTPS67 zu drei Genotypgruppen nach ihrer Reaktion im Blättchentest mit mehreren differenzierenden Isolaten von *P. infestans*.

Genotyp Gruppe	Anzahl	
	Individuen	Idealzahl
R <sub>T</sub>	85	90
R <sub>M</sub>	54	45
Anfällig	40	45
unbekannt	17	
Summe	196	

Weitere Blättchentests an segregierendem Material mussten leider verschoben werden, da das dafür ursprünglich ausgewählte Material durch einen unvorhergesehenen Umstand verloren gegangen ist, wie in Punkt 4 (unten) ausgeführt wird.

### 4. Auswahl zusätzlicher segregierender Kreuzungsnachkommenschaften zur Entwicklung und Testung von molekularen Resistenzmarkern in Folgeprojekten

4.1. Aus im Jahr 2004 erstmals im Feld getesteten Kreuzungsnachkommenschaften waren mehrere wegen des visuell gut erkennbaren Vorkommens von gesunden und stark *Phytophthora*-kranken Individuen nebeneinander ausgewählt worden und sollten 2005 erneut angebaut werden. Jedoch wurde bei Routineuntersuchungen im Zuchtprogramm der NÖS leider in allen jenen Nachkommenschaften Befall mit Mosaikvirus gefunden und die Populationen wurden deshalb vom Züchter eliminiert. Deshalb haben wir neue Kreuzungsnachkommenschaften, die aus Samen von 2003 angezogen worden waren, anhand der Erkenntnisse über die Resistenz ihrer Eltern zur Untersuchung bestimmt.

4.2. Es war vorgesehen, molekulare Marker an den ursprünglich ausgewählten Populationen zu testen. Da dieses aufgrund des Verlustes jener Populationen nicht mehr möglich war, wurde die freigewordene Kapazität zur Entwicklung eines neuen Markers eingesetzt. Dieser

Marker basiert auf dem Gen *Pr1-b2*, das im Zusammenhang mit dem Resistenzverhalten von Kartoffelpopulationen beobachtet und isoliert wurde (Evers *et al.*, siehe Liste der Publikationen, oben). In diese Arbeiten wurde eine Dissertantin (Frau H. Armanious, Universität von El Minia, Ägypten), die Gast in unserem Labor ist, anstelle eines geplanten Diplomstudenten eingebunden.

#### **4.1.1. Material und Methoden**

Eine Gruppe von 6 Kreuzungsnachkommenschaften zu je 50 Individuen des Typs NÖS-Zuchtstamm x Genressource TPS67 wurde im Winter 2004 vom Züchter benannt und ausgehend von Einzelknollen (1 Knolle je Individuum) über (gesunde) Stecklinge klonal vervierfacht. Die einzelnen Kreuzungen sind: Husar, Laura, Rosita, Tosca, Quarta sowie Atzimba, jeweils als Mutter gekreuzt mit TPS67.

Der ursprüngliche Plan, Populationen nach Knollenvermehrung im Vorjahr zu verwenden, musste fallen gelassen werden, da jene Populationen leider durchgehend von Virus befallen worden waren.

Die Stecklingspflanzen wurden mit Miniparzellen zu je 2 Pflanzen in 2 Wiederholungen angebaut und der natürlichen Infektion überlassen. Besondere Infektionsquellen, wie zB Pflanzen einer anfälligen Sorte wurden nicht einbezogen, jedoch war das Feld von zwei Reihen der anfälligen Sorte Naglerner Kipfler umgeben. Die Schwankungen im Befallsgrad, die durch die jeweilige Position der Parzelle entstanden sind, wurden mit der bewährten rechnerischen Methode nach Anoshenko (1996) eliminiert. Diese Bereinigung ist gelungen, da die Korrelation zwischen beiden Wiederholungen signifikant war und die Werte für die Heritabilität der ermittelten Resistenz hoch waren (nicht gezeigt).

Der Befallsgrad des Krauts in den Parzellen wurde zu zwei Terminen geschätzt. Für die Analyse mittels Histogramm, Clustering und genetischer Spaltungsanalyse (Chi-Quadrat Homogenitätstest) wurden beide Beobachtungsreihen getrennt herangezogen, um individuelle Unterschiede in der Vegetationszeit der einzelnen Nachkommenschaften und verursacht durch die Dynamik der Epidemie zu berücksichtigen. Von einer Auswertung basierend auf synthetischen Parametern (AUDPC,  $r$ ) wurde abgesehen, wegen deren Tendenz zur Verringerung von Kontrasten und der Verstärkung quantitativer Komponenten des Resistenzverhaltens.

#### **4.1.2. Ergebnisse**

Trotz der Verwendung möglichst vergrößernder Kriterien bei der Bewertung im Feld (Einzelbeobachtungen, Clustering und Histogramme) war es nicht möglich, klar getrennte Phänotypklassen zu finden, deren Vorhandensein auf das Wirken zugrundeliegender Resistenzen zurückgeführt werden könnte. Die Verteilung der Resistenzgruppen in jeder Nachkommenschaft reichte von eingipflig bis zu angedeutet zweigipflig (Abb. 4.1).

#### **4.1.3. Diskussion und Schlussfolgerungen**

Die Interpretation der Ergebnisse ist problematisch. Der in allen Kreuzungen verwendete Resistenzvererber TPS67, der nachweislich den Faktor  $R_T$  überträgt (s. Untersuchungen an der Kreuzung MF-IIxTPS67), hat sicher zu Teilen des beobachteten Resistenzgrades beigetragen. Da  $R_T$  jedoch von den vorhandenen Rassen durchbrochen wird, ist die verbleibende Resistenz graduell abgestuft und ihre Detektion erschwert. Dieses Bild dürfte für die Mehrzahl aller vorhandenen Resistenzen zutreffen (vgl. auch Beobachtungen an den R-Gen-Differentialen), deshalb ist es für die Züchtung zweckmässig, die Selektion auf *Phytophthora*-Resistenz-Faktoren nicht mit der herkömmlichen Methode der Beobachtung im Feld durchzuführen. Alternativen bieten die Vorselektion im Glashaus oder Labor mittels biologischem Blättchentest unter Verwendung gut charakterisierter Differentialrassen oder, in der Zukunft, die Selektion mit molekularen Markern für Resistenzgene. Wir konnten im

Rahmen dieses Projektes einige Schritte in beide Richtungen unternehmen. Differentialrassen zur Detektion des Faktors  $R_T$  aus TPS67 wurden von österreichischen Mustern isoliert (vgl. Abschnitt des Berichts zur *P. infestans* Charakterisierung) und Fortschritte auf dem Weg zur Gewinnung treffgenauer molekularer Marker wurden erzielt. Die Labortestung im Blättchentest könnte in der Praxis bereits angewendet werden, unterbleibt aber wegen fehlender Infrastruktur beim Züchter. *Phytophthora*-Resistenz ist ein Merkmal von relativ geringer Gewichtung im Zuchtprogramm, die wesentlichen Kapazitäten sind in erstrangigen Merkmalen wie Ertrag, Qualität, Knollenbeschaffenheit und Lagerfähigkeit gebunden. Trotzdem oder gerade deshalb könnte die Selektion auf *Phytophthora*-Resistenz z.B. an unabhängige Labors ausgelagert werden.

Während bei den beschriebenen Biotests zumindest die Möglichkeit der sofortigen Etablierung beim Züchter besteht, wären für molekularbiologische Anwendungen von Resistenz-Markern signifikante Investitionen und der Erwerb zusätzlichen Know-hows erforderlich. Da derzeit Forschung und maßgeschneiderte Markerentwicklung Hand in Hand gehen, erscheint es sinnvoll, dass Züchter die Zusammenarbeit mit Wissenschaftlern suchen. Es ist vorstellbar, dass rationelle Hochdurchsatz-Techniken der Selektion mit Markern ein entsprechendes Niveau von Effizienz erreichen, die ihre Anwendung in Großlabors und Serviceeinrichtungen rentabel machen. Bis dahin ist jedoch noch einige Entwicklungsarbeit nötig.

Das derzeitige Verfahren des Züchters besteht in der Selektion nach den wesentlichen Zielkriterien, die neben Ertrag und Knollenbeschaffenheit auch Kochqualitätseigenschaften sowie Feldabbauresistenz, d.h. hohes Niveau allgemeiner Virusresistenzen, umfassen. Zuchtstämme werden erst in fortgeschrittenen Selektionsstadien der natürlichen Infektion im Feld ausgesetzt, der Erfolg einer solchen Beobachtung wird also zwangsläufig vom zufälligen Vorhandensein der geeigneten Bedingungen einschl. Witterung und Infektionsdruck abhängen. Da bis zu dem späten Zeitpunkt im derzeitigen Zuchtschema schon die resistentesten Kreuzungsnachkommen durch die vorangehenden Selektionsschritte eliminiert sein können, schreitet die Verbesserung des Resistenzniveaus im gesamten Zuchtprogramm sehr langsam voran. Deshalb wird vom Züchter jetzt überlegt, zur verbesserten Selektion von *Phytophthora*-resistentem Zuchtmaterial auf der Grundlage der Ergebnisse des gegenständlichen Projektes, die Prüfung und Selektion für *Phytophthora* Resistenz auf frühere Schritte im Zuchtprogramm zu verlegen und die Infektionsbedingungen in der Feldprüfung zu verbessern.

#### **4.2. Material, Methoden und Ergebnisse**

Für das Kartoffel-Gen *Pr1-b2* wurden mit spezifischen PCR Primern Fragmente aus dem Genom von mehreren Sorten amplifiziert. Diese Fragmente wurden sequenziert bzw. in einem p-Bluescript Vektor kloniert und nach Selektion einzelner Kolonien wiederum PCR-amplifiziert und sequenziert. Das sequenzierte Fragment hat eine mittlere Größe von ca. 450 Nukleotiden und es wurden anhand der existenten SNPs (single nucleotide polymorphisms) mehrere Allele des Gens gefunden. Ein Teil der untersuchten Sorten hatte nur ein Allel (homozygot), jedoch wurden u.a. in den Eltern MF-II und TPS67 der in Kapitel 2 untersuchten Population mehrere Allele gefunden (vgl. Tabelle 4.2.1).

Tabelle 4.2.1. Detektion von SNPs in der Sequenz (Ausschnitt) des Gens *Pr1-b2* aus verschiedenen Kartoffelsorten und Zuchtstämmen.

Sorte	Nukleotide mit allelspezifischen Polymorphismen															
	72	73	76	77	80	81	82	86	96	107	108	137	138	156	174	202
PR1b2 original	A ?	T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	T	T	G
Pimpernel	C	A	T&A	T	G	T&C	T	A	G	A	C	T&A	C&T&A	C&A	C	A
MF2	A	C	A	T&C	G	T	T	T	G	A	C	A	C	C	C	A&G
TPS 67	A	C	A	T	G&C	T	T	T	G	A&T	C&A	T&A	C	C	C	A
Delikatess	A	T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	T	T	G
Laura	A	C&T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	C&T	T	G
Yungay	A	T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	T	T	G
PD8	A	T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	T&C ?	T	G
PD53	A	T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	T	T	G
PD97	A	T	A	T	G	T	C	T	T	A	C	A	C	T	T	G
Evita	A	A&C	A	T	G	T	T	T	G	A	C	A	C	C ?	C	A&G

Für diese Allele sollen in der Folge spezifische PCR Primer hergestellt werden, mit denen dann die Population MF-II x TPS67 gescreent wird. Im Ende soll der Genotyp am *Pr1-b2* Locus dem Resistenzphänotyp gegenübergestellt werden, um Assoziation mit den vorhandenen Resistenzfaktoren zu detektieren. Diese Arbeiten werden in einem Folgeprojekt durchgeführt werden.

Die im gegenständlichen Projekt erfolgten Arbeiten wurden anstelle eines avisierten Diplomanden von einer Dissertantin (Frau H.A. Armanious) durchgeführt, sie ist von der El-Minia Universität, Ägypten, und hat im gegenständlichen Projekt von Mitarbeitern unserer Arbeitsgruppe am ARC-sr die notwendige Ausbildung zur Durchführung der o. a. Arbeiten erhalten.

## 5. Glashaustest zur Feststellung der Wirkung von Licht auf die Resistenz

### Hintergrund

Von dem bekannten Phänomen der Assoziation später Reifezeit mit hoher *Phytophthora*-Resistenz ausgehend ist es nahe liegend zu untersuchen, welche genetischen und physiologischen Faktoren der Pflanze eine bestimmte Vegetationsdauer oder Reifezeit bedingen. In einem ersten Schritt sollten genetisch möglichst gut beschriebene Materialien (Kartoffelsorten) ausgewählt werden, die sich in ihrem Verhalten hinsichtlich Resistenz und Vegetationsperiode unterscheiden und die eine möglichst große Bandbreite von Reaktionsmustern repräsentieren.

### Material und Methoden

Eine Gruppe von acht diploiden und tetraploiden Kartoffelstämmen wurde ausgewählt, die frühreif und *Phytophthora*-anfällig bzw. spätreif und resistent und entweder an Langtag oder an Kurztag angepasst sind. Diese wurden über Stecklinge vermehrt und in Parzellen zu jeweils 4 jugendlichen Topfpflanzen in eine Klimakammer gegeben. Die Klimakammer war in der Mitte lichtundurchlässig unterteilt worden, in einer Hälfte wurde Kurztag erzeugt (8h Licht, 16h Dunkelheit), in der anderen Hälfte herrschte Langtag (15h Licht, 9h Dunkelheit). Je Lichtbehandlung waren alle Sorten in dreifacher Wiederholung randomisiert angeordnet. Nach Abschluss der Lichtbehandlung (4 Wochen) wurden alle Pflanzen unter einheitliche Bedingungen des winterlichen Kurztags in Seibersdorf im Glashaus bei zusätzlicher künstlicher Beleuchtung bis 18.00 gebracht (10-11h photosynthetisch aktiven Lichts). Die Pflanzen wurden dort mit einem Gemisch von zwei virulenten *P. infestans* Isolatens inokuliert. Die gesamten Pflanzen wurden mit Handsprühflaschen tropfnass mit einem Gemisch von Sporangien und Zoosporen eingesprüht und konstant feucht gehalten. Die Bonitur des prozentualen Befalls erfolgte mehrfach im Abstand von zwei Tagen.

## Vorläufige Ergebnisse und weitere Aufgaben

Die Tageslänge hatte einen signifikanten und starken Einfluss auf die Ausprägung der Resistenz gegen die Krautfäule, Abbildungen 5.1 und 5.2 geben einen ersten Überblick. Überwiegend reagierten die Pflanzen nach Langtagsbehandlung mit erhöhter Resistenz relativ zur Kurztagsbehandlung, allerdings gab es von der Sorte abhängige Unterschiede (Abb. 5.2).

Damit ist das für dieses Projekt gestellte Ziel erreicht, das Experiment ist gelungen und es stehen jetzt acht Kartoffelgenotypen für weitere Untersuchungen in Folgeprojekten bereit.

Die vollständige Auswertung sowie Wiederholungen des Experimentes zu anderen Zeitpunkten mit neuem klonalen Pflanzenmaterial werden ebenfalls in Folgeprojekten erfolgen.

## 6. Einkreuzung der Resistenz in Zuchtklone

Kreuzungen wurden im Gewächshaus zwischen Sorten und somatischen Hybriden von *S. capsicibaccatum*+*S. phureja* (sog. Raka-Stämme) durchgeführt. Diese Hybriden, die einmalig sind, wurden von Dr. L. Schilde, Univ. Tübingen, freundlicherweise zur Verfügung gestellt und zeichnen sich durch ein sehr hohes Maß an Resistenz gegen *P. infestans* aus. Insgesamt wurden Samen aus 20 Kreuzungskombinationen unter Verwendung von 6 verschiedenen somatischen Hybriden und 10 Sorten bzw. Zuchtstämmen erhalten.

Tabelle 6.1. Kreuzungen mit somatischen Hybriden.

Mutter	Pollen	Samen
2672/95	Raka 41	290
Ariella	Raka 68	358
C854	Raka 27	223
C854	Raka 31	530
C854	Raka 31	706
C854	Raka 41	647
C854	Raka 68	137
Evita	Raka 27	131
Evita	Raka 41	39
Kuras	Raka 31	167
Pampaena	Raka 68	154
Pampeana	Raka 27	135
Pampeana	Raka 31	318
Pampeana	Raka 9	324
Quarta	Raka 31	125
Quarta	Raka 68	71
Raka 68	Romina	109
Romina	Raka 31	82
Romina	Raka 68	33
Tosca	Raka 27	466
Tosca	Raka 41	195
Gesamt		5240



## 7. Monitoring von *P. infestans* Populationen in Österreich

### 7.1. *Phytophthora infestans* Rassenmonitoring im Feld an den Kartoffel-R-Gen-Differentialen

#### Material und Methoden

Die Differentialklone für die Kartoffel-R-Gene des internationalen Sortiments wurden in Parzellen zu je fünf Pflanzen zentral im Zuchtgarten angebaut und dienten zur Beobachtung der natürlichen Infektion mit virulenten Rassen.

#### Ergebnisse

Alle Differentiale wurden wie schon im Vorjahr stark befallen (Tabelle 7.1.1). Unterschiede traten jedoch im Zeitpunkt des Auftretens erster Symptome und in der Grösse des Zeitraums bis zum Absterben der Pflanzen auf. Die Differentiale R9, R8 und R5 wurden relativ spät befallen und die Krankheit schritt auf ihnen relativ langsamer voran.

Die Infektion war an den Knollen in unterschiedlichem Maß sichtbar, besonders R3 hatte extrem starken Befall.

Tabelle 7.1.1. Kraut- und Braunfäule auf R-Differentialen nach freier Infektion im Zuchtgarten in Meires 2005.

Differential	Befall des Krautes [%]				Krautreife <sup>1</sup>	Knollenbefall <sup>2</sup>	
	Datum	10.Aug	28.Aug	06.Sep			21.Sep
R1		15	85	100	100	Spät	0
R2		25	70	95	100	Mittel	0
R3		25	95	100	100	Mittelfrüh	60
R4		30	85	100	100	Mittelfrüh	10
R5		10	<b>30</b>	<b>90</b>	<b>100</b>	Mittelfrüh	0
R6		15	80	100	100	Mittel	0
R7		10	75	100	100	Spät	10
R8		5	<b>70</b>	<b>100</b>	<b>100</b>	Spät	0
R9		0	<b>70</b>	<b>80</b>	<b>95</b>	Spät	0

<sup>1</sup> Reifegrad des Krauts ermittelt am 10. August unter Betrachtung des physiologischen Stadiums (vor-nach Blüte) und der Ausbildung der Stauden. R1 hat sich offenbar spät entwickelt, denn es erschien abweichend vom bekannten Reifetyp (mittelspät).

<sup>2</sup> Zur Ernte (10. Oktober) wurde der Braunfäulebefall der Knollen geschätzt als Anteil von Knollen mit Läsionen in der Parzelle.

Ungewöhnlich hohe Befallswerte sind hervorgehoben.

#### Diskussion und Schlussfolgerungen

Der Krautbefall ähnelte in seinem Ausmass dem im Jahr 2004 und somit hat sich der Trend zu erhöhter Virulenz und Aggressivität der *Phytophthora* besonders auf den Differentialen R5, 8 und 9 fortgesetzt.

Die Unterschiede im Grad des Befalls und die Verzögerung der Symptomatik sprechen dafür, dass die Resistenzen, die durch die Differentiale R9, R8 und R5 repräsentiert werden, weiterhin wirksam sind, wenn auch in schwächerem Maß als in Gegenden, wo diese Gene nicht durchbrochen werden. Die Überwindung dieser Resistenzen ist offenbar mit Kosten für das pathogen verbunden, diese Eigenschaft muss erst im Vegetationsverlauf erworben oder aufgebaut werden.

Die Überwindung der Resistenz dieser drei Differentiale ist keineswegs alltäglich. Dr. D. Shaw, Wales, und Louise Cooke, Belfast, sowie Kollegen vom SCRI, Dundee, Schottland berichteten über das Fortbestehen der weitgehenden Befallsfreiheit dieser Differentiale in ihren Ländern (mündliche Information).

Der Befallsgrad der Knollen wich vom Befall des Laubes dahingehend ab, dass nur zwei Differentiale überhaupt Symptome hatten. Unterschiede im Verhalten von Knollen und Laub wurden in der Literatur mehrfach beschrieben, die Beobachtungen sind aber widersprüchlich. Unser Fangsortiment diente zur Beobachtung des Krautbefalls und war nicht zur Analyse des Knollenbefalls ausgelegt.

## 7.2. Sammlung und Untersuchung von *P. infestans* Isolaten von Kartoffel- und Tomatenkulturen in Österreich

### Material und Methoden

Insgesamt gelang es, über 200 Muster (Tabelle 7.2.1) zu isolieren und zu untersuchen. Dies war wiederum möglich durch die Mithilfe von Lehrern und Schülern der HBLA Ursprung, Salzburg (Dr. K. Steiner und seine Schüler) sowie die schon bewährte Zusammenarbeit mit der LLWK NÖ, Bioernte Austria, Firma Frisch und Frost und durch eigene Sammeltätigkeit. Die Berichte zur Initiative und Aufruf zum Einsenden von Proben über die lokale Presse wurden kurz vor den Sommerferien, zum Auftakt des *P. infestans* Auftretens begonnen durch die Initiative von Dr. K. Steiner, Ursprung.

Tabelle 7.2.1. *P. infestans* Isolate 2005, Anzahl je nach Kultivierungskategorie

Kultur	Anzahl	Kultivierung
Kartoffel	62	konventioneller Feldanbau
	15	organische Kartoffelproduktion im Feld
	53	Experimental-Feldanbau
	5	Hausgärten
	5	Unbekannt
Tomate	50	Hausgärten
	14	konventioneller Anbau in Feld und Folientunnel
	2	organische Produktion im Feld

Die in den Vorjahren als strategisch wichtig eingeschätzten Gebiete mit verbreitetem Kartoffelanbau wurden besonders berücksichtigt und die Anzahl der Isolate dürfte für diese ausreichend repräsentativ sein.

Die Isolation gelang durch Transfer von Mycel und Sporangien auf selektives Medium oder direkt auf Roggen-Agar. Die Kulturen wurden auf Roggen-Agar erhalten, zur DNA Isolation in flüssigem Erbsen-Medium stark vermehrt und zur Langzeitlagerung auf Roggen-Agar im Kühlschrank aufbewahrt.

Alle Isolate wurden der Bestimmung des mating type („weiblich“ oder „männlich“, A1/A2) durch Testpaarungen mit Detektorrassen und Feststellung der Oosporenbildung unterzogen. Von 38 nach Herkunft ausgewählten Isolaten wurde der Pathotyp in Blatttests am Kartoffel-Differential-Sortiment ermittelt.

Von allen Mustern wurde DNA isoliert, der genetische Fingerabdruck wurde erstellt unter Verwendung der molekularen Markersysteme mt-DNA Haplotyp, SSR, und neu entwickelten single nucleotide polymorphism (SNP) Markern für drei single-copy Gene des *P. infestans* Genoms. Diese Fingerabdrücke wurden auch für die Isolate von 2003 und 2004, die zur Zeit des Zwischenberichts 2004 noch offen waren, vollständig erstellt.

## Ergebnisse

Die Auswertung aller Daten im Rahmen einer Dissertation ist noch nicht abgeschlossen. Hier soll deshalb an schon vorhandenen Teilergebnissen eine Vorstellung von der Reichweite und Informationsbreite der Untersuchung vermittelt werden. Eine umfassende Darstellung der entsprechenden Erkenntnisse, Schlussfolgerungen und Empfehlungen für ganz Österreich über den gesamten Zeitraum sind im Rahmen der laufenden Dissertationsarbeit von DI J. Avendaño zu erwarten. Diese Dissertation wird voraussichtlich im zweiten Halbjahr 2006 eingereicht werden (Universität für Bodenkultur).

### Pathotyp-Marker

Eine Frequenzanalyse der Pathotypen, die 2005 gefunden wurden, bestätigte das Überwiegen besonders virulenter Kombinationen. Von den 38 untersuchten Isolaten hatten alle die Mindestfähigkeit, die Resistenzfaktoren 1, 3, 4 und 7 zu überwinden (Virulenz auf R1, R3, R4, R7). Von mittlerer Häufigkeit waren die Virulenzen 6, 8, 10 und 11, während 2, 5 und 9 in 20-40% der Isolate vorkamen. Isolate von Kartoffel wiesen meistens 8 Virulenzen auf, während Tomaten-*P. infestans* oft nicht mehr als 6 spezifische Resistenzen überwand. Das bedeutet eine tendenzielle Steigerung gegenüber den Vorjahren. Tomaten wiesen immer noch minimale Pathotypen mit 4 Virulenzen auf (1.3.4.7), auf Kartoffeln wurden im Versuchsfeld in Meires die komplexesten Rassen mit allen 11 Virulenzen gefunden.

### Paarungstyp-Marker

Für den Paarungstyp wurde wie in den Vorjahren festgestellt, dass beide Typen nebeneinander vorkommen, bei Kartoffel-*Phytophthora* bestand ein Gleichgewicht, in Tomaten überwog der A1-Typ (Tabelle 7.2.2). Diese Fakten sprechen für die weite Verbreitung der geschlechtlichen Fortpflanzung, in Ergänzung zur früher ausschliesslichen klonalen, ungeschlechtlichen Vermehrung über vegetative Sporen, und damit verbundene mögliche genetische Rekombination und erhöhte Anpassungsfähigkeit an Änderungen auf der Seite von Wirt und Klima.

Tabelle 7.2.2. Verbreitung der Paarungstypen von *P. infestans* von 2005.

<b>Wirtspflanze</b>	Anzahl Isolate	A1 (%)	A2 (%)	1:1 ( $\chi^2$ -Test)
Tomaten	65	74%	26%	***
Kartoffel (ohne Experimental)	87	55%	45%	n.s.
Kartoffel (Experimental)	48	68%	32%	***
<b>Region</b>				
Industrieviertel	23	57	43	n.s.
Nordburgenland	25	72	28	*
Oberösterreich-Süddonau	4	50	50	-
Oststeiermark-Südburgenland	11	45	55	n.s.
Salzburg	13	62	38	n.s.
Steiermark	1	100	0	-
Vorarlberg	1	100	0	-
Waldviertel	28	57	43	n.s.
Weinviertel	46	70	30	**

### Mitochondrien-Marker

Die weite Verbreitung der geschlechtlichen Vermehrung als Grundlage für die ungeschlechtliche Vermehrung innerhalb von jährlichen Epidemien wird auch durch das parallele Auftreten verschiedener Mitochondrien-Typen belegt. Mitochondrien (Organellen) werden höchstwahrscheinlich eingeschlechtlich im Zytoplasma der „Mutter“ übertragen, deshalb weist das Auftreten verschiedener Mitochondriengenome auf verschiedene „Mutterformen“ hin (Tabelle 7.2.3).

Tabelle 7.2.3. Verteilung von mitochondrialen Haplotypen unter österreichischen *P. infestans* Isolaten 2005.

Region	Anzahl	mt-DNA-Haplotyp (%)		
		1a	2a	1b
Industrieviertel	22	9	91	
Nordburgenland	20	25	75	
O-Österreich, südlich Donau	4	50	50	
Oststeiermark-Südburgenland	10	60	40	
Salzburg	12	67	33	
Steiermark	1	100	-	
Vorarlberg	1	na		
Waldviertel	22	50	46	4
Weinviertel	39	69	31	

### SSR Marker

Drei molekulare Mikrosatelliten (SSR) Marker wurden eingesetzt (Pi4B, Pi4G, PiG11), diese detektierten insgesamt 18 Allele (4 mit Pi4B, 6 mit Pi4G, 8 mit PiG11). Einige dieser Allele dominierten (Abbildungen 7.2.1-3), und unter der Vielzahl der daraus resultierenden Kombinationen (Genotypen) dominierten wiederum einige wenige, Unterschiede traten besonders je nach Wirtskultur (Kartoffel oder Tomate) auf. Die Mikrosatelliten Marker waren gut geeignet zur Detektion der Diversität in den vorkommenden *P. infestans* Populationen, obwohl diese Technologie weiter entwickelt und nach zusätzlichen informativen SSR Markern gesucht werden muss.

### SNP Marker

Ergänzende Informationen konnten mit neuen single nucleotide polymorphism (SNP) Markern für drei *P. infestans* Gene gewonnen werden. Diese SNPs wurden im gegenständlichen Projekt entdeckt und die Marker dafür entwickelt; ihre Anwendung an den Mustern der Kollektionen von 2005 dient zur Validierung dieser Marker. Die Gene *P. infestans cleavage-associated kinase* (*Pikin*, GenBank accession AY093611), *P. infestans necrosis inducing protein 1* (*NPPI*, GenBank accession AF356840) und *P. infestans syntaxin 6* (*Stx*, GenBank accession AF404749) wurden in Datenbanken identifiziert bei der Suche nach Genen, die nur als Einzelversion und nicht als Genfamilien existieren.

Polymerase Chain Reaction (PCR) Primer wurden für jedes dieser Gene entworfen und der Einzelgenstatus wurde mit den erhaltenen Fragmentmustern nach PCR bestätigt. Die PCR Fragmente wurden sequenziert und dadurch konnte das Vorkommen verschiedener Nucleotide an einer bestimmten Position in der Sequenz festgestellt werden. Eine solche Position mit mehreren Alternativen in der Nucleotidsequenz wird als single nucleotide polymorphism (SNP) bezeichnet. Mehrere SNP Positionen wurden in der Sequenz von allen drei Genen gefunden und spezifische PCR Primer, die jeweils nur eine bestimmte Form eines SNPs amplifizieren (detektieren) wurden synthetisiert. Durch Sequenzierung der Fragmente

dieser Gene aus 35 *P. infestans* Isolaten wurde festgestellt, dass basierend auf den SNPs nur einige wenige Allele existieren. Mit den erzeugten Primern für die SNPs sind wir jetzt in der Lage, die Mehrzahl dieser existenten Allele spezifisch nachzuweisen. Diese Nachweise wurden an den Isolaten von 2005 durchgeführt. Die Komplexität der Information, die mit diesen allelspezifischen Markern gewonnen werden kann, kann am Beispiel von *P. infestans* aus dem Versuchsfeld in Meires, Waldviertel, NÖ, dargestellt werden. Dort waren von Parzellen ausgewählter Stämme über einen Zeitraum von 2 Monaten wiederholt *P. infestans* Muster isoliert worden. Diese Art der Probennahme erlaubt die Untersuchung von Zusammenhängen bezüglich Rassenspezifität von bestimmten Wirts-Kartoffel-Stämmen, die zeitliche Ausbreitung bestimmter Pathogenrassen und die Verwandtschaft der gefundenen Rassen untereinander. Eine Clusteranalyse nach dem UPGMA Verfahren (Abb. 7.2.4) unter Einbeziehung des genetischen Fingerabdrucks aller 54 Isolate zeigt, dass sich fast alle Isolate in zwei generelle Gruppen einteilen lassen. Diese Gruppierung war abhängig von den jeweiligen Wirtssorten und hat sich über die Zeit von mehr als einem Monat aufrechterhalten. Eine umfangreiche Darstellung aller Ergebnisse wird z.Z. im Rahmen der Dissertation von Herrn José Avendaño erarbeitet.

Entsprechende Publikationen und die Veröffentlichung von geografischen Karten sowie statistischen Erhebungen über die *Phytophthora* Populationen sind in Vorbereitung.

### **Danksagungen**

DI J. Schmiedl von der Landes-Landwirtschaftskammer Niederösterreich sowie Hr. Ing. Leeb von Frisch und Frost stellten ihre Erfahrung und Transportmöglichkeiten zur Verfügung, um beim Sammeln von *Phytophthora* Isolaten im Raum Niederösterreich zu helfen. Weitere Muster wurden von Schülern, Bäuerinnen und Bauern eingesandt in Reaktion auf Informationen in der Presse (40 lokale Redaktionen von Zeitungen und Zeitschriften, initiiert durch Dr. K. Steiner und seine Schüler der HBLA Ursprung). Wir danken Dr. Konrad Steiner und seinen Schülern der Höheren Bundeslehranstalt für Landwirtschaft, Ursprung, A-5161 Elixhausen/Salzburg für ihr Engagement und die Unterstützung beim Proben Sammeln. Für die Kontaktaufnahme mit den Biobauern danken wir erneut Frau DI Roswitha Six vom Bundesbüro der Bio Ernte Austria, Feldgemüse- und Kartoffelbauberatung. Frau DI Elke Rauscher (AGES) hat für informelle Zusammenarbeit, Informationsaustausch über Krautfäule-Untersuchungen bis 2003 zur Verfügung gestanden.

# Abbildungen



Abbildung 1.2. Fungizidversuch 28. Aug.

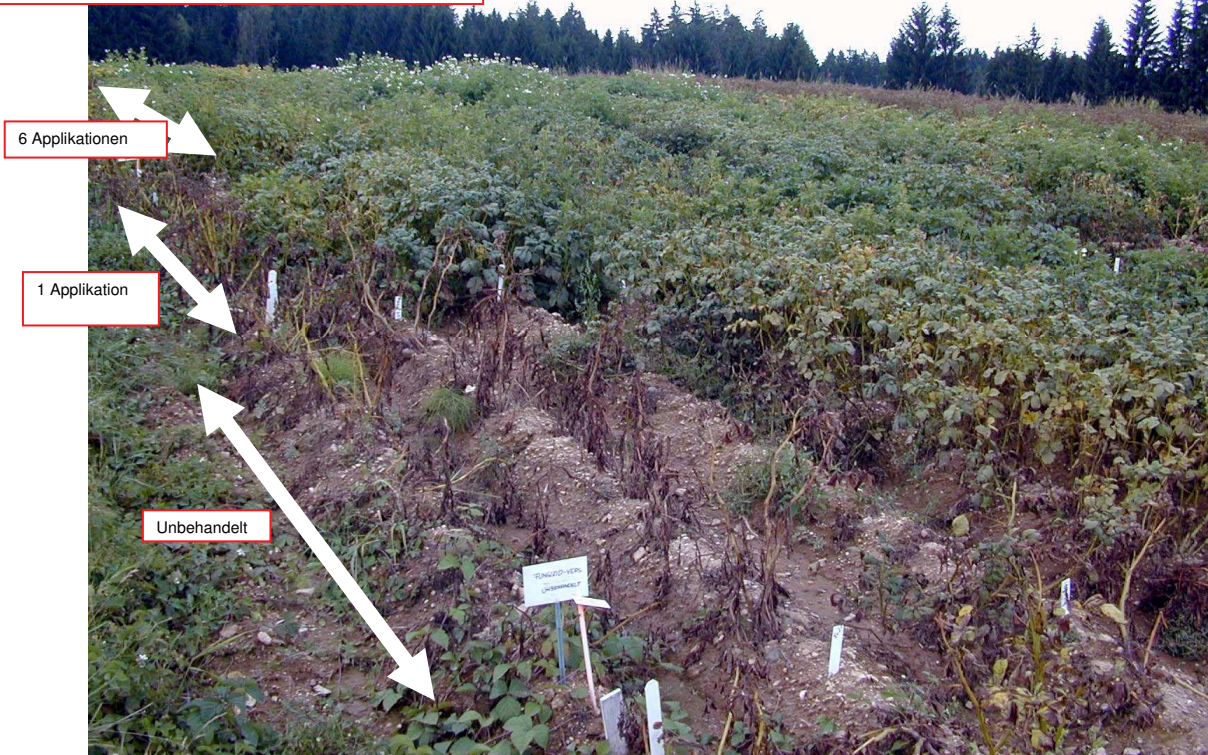


Abbildung 1.3. Fungizidversuch, Auswirkung der Protektion auf den durchschnittlichen prozentualen Befall durch *P. infestans*. Zur Beachtung: Applikation in Variante „1 Applikation“ erfolgte 3 Wochen vor Erstinfektion.

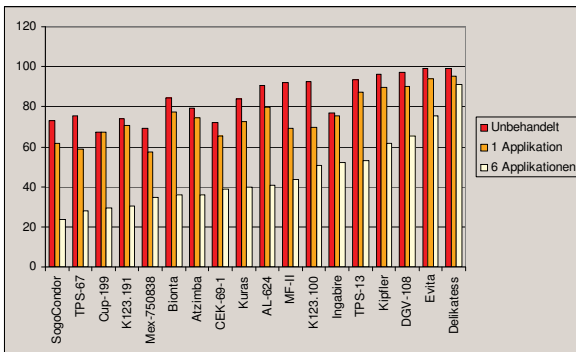


Abbildung 1.4. Fungizidversuch, Auswirkung der Protektion auf die Schätzung der Reifezeit. Reife geschätzt an Vergilbungsgrad und Habitus des Laubes (1-spät, 5-früh), am 10. August, nach der 5. Applikation.

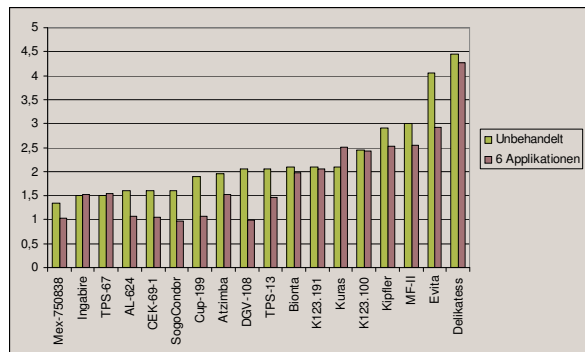


Abbildung 2.1. Beitrag von teilweise überwundenen Resistenzfaktoren zur Verringerung des Befalls durch Krautfäule im Feld. 80 Nachkommen der Kreuzung MF-IIxTPS67 mit den im Labor ermittelten Resistenzgenotypen R<sub>T</sub> (30 Individuen), R<sub>M</sub> (30x) und S (anfällig, 20x) wurden 2005 im Feld angebaut und die durchschnittliche Differenz im Befallsgrad ermittelt.

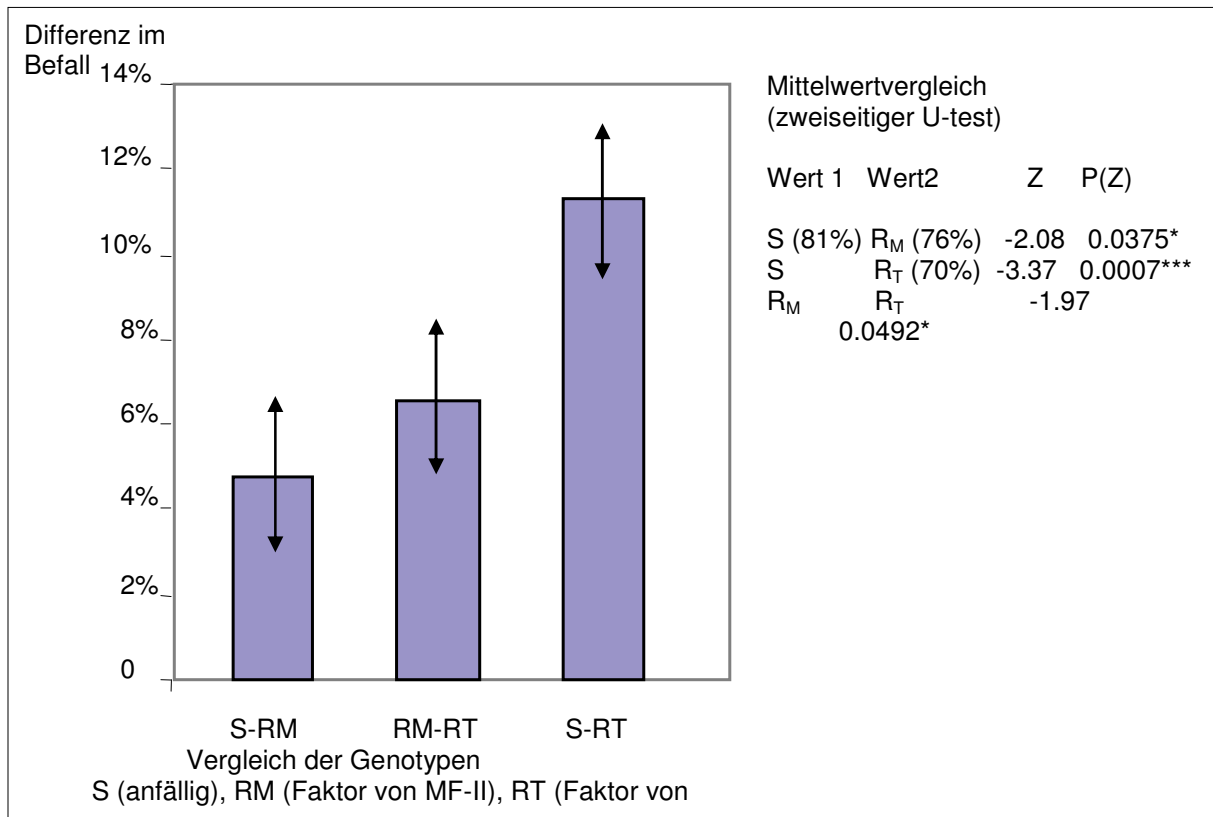




Abbildung 2.2. Population MF-IIxTPS67 (80 Individuen), Histogramm der Verteilung der Resistenz-Klassen wie 2005 im Feld bei Meires beobachtet. Werte entsprechen dem Mittel aus drei Bonituren mit hoher Heritabilität des Merkmals. Die Position der Eltern (MF-II und TPS67) sowie von Kontrollsorten mit bekanntem Feldresistenzgrad ist angegeben.

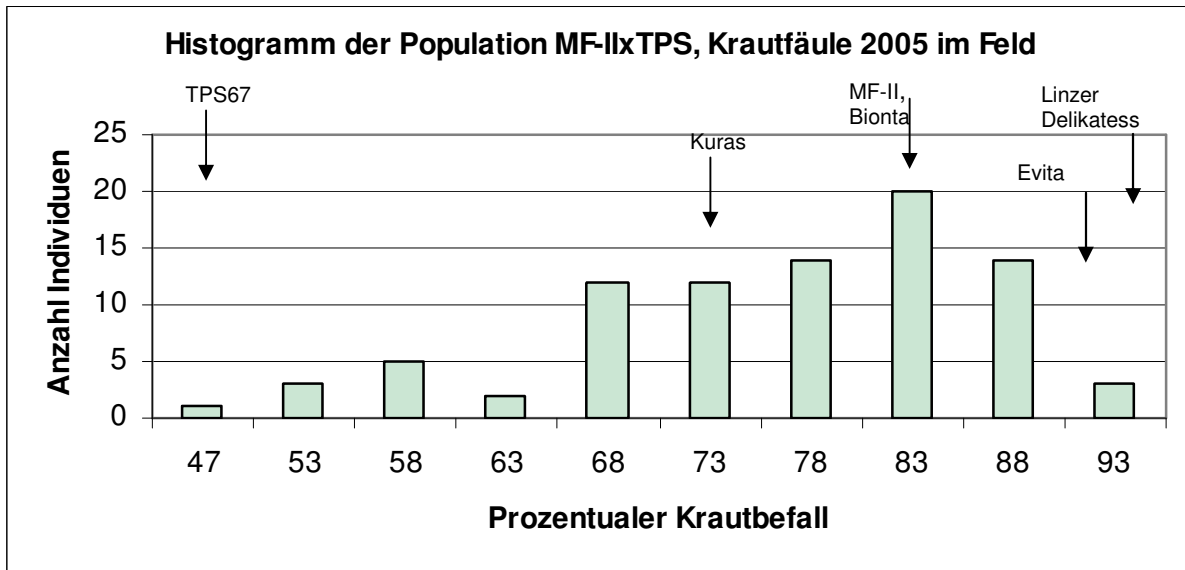


Abbildung 2.3. Population MF-IIxTPS67 (80 Individuen), Histogramm der Verteilung der Resistenz-Klassen 2005 im Feld. Substrukturierung nach Resistenz-Genotyp (RM, RT und S) und Indikation der Kontrollsorten mit bekanntem Feldresistenzgrad.

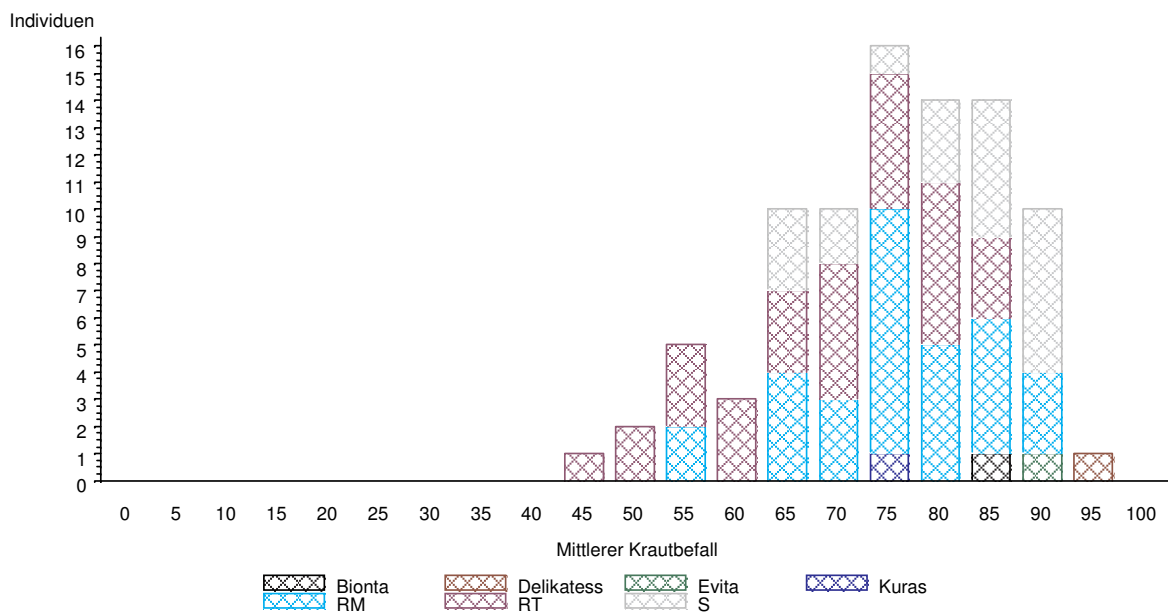
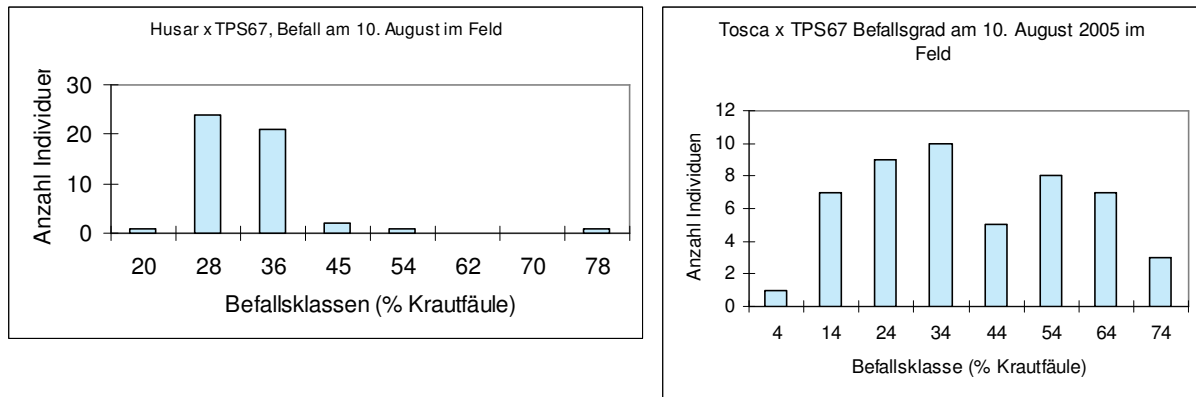


Abbildung 4.1. Verteilung der Krautfäule-Befallsgrade an je 50 Individuen von Kreuzungsnachkommenschaften zur Einkreuzung von Genressourcen in österreichisches Zuchtmaterial. Histogrammdarstellung der Krankheitsbonitur nach freier Infektion im Feld in einer Anlage von Miniparzellen mit 2 Wiederholungen. Links (Husar x TPS67) engpfeilige Verteilung bei hohem Resistenzniveau, rechts (Tosca x TPS67) möglicherweise bimodale Verteilung, Indikator für Aufspaltung in Klassen mit hoher bzw. geringer Resistenz. Zur besseren Beurteilung müssen weitere Methoden des Resistenznachweises eingesetzt werden.



**Abbildung 5.2. Gewächshausversuch zum Einfluss der Beleuchtungsdauer auf die *Phytophthora*-Resistenz, Dezember 2005-Februar 2006. Befallsgrad der Sorten in Abhängigkeit von der Tageslänge.**

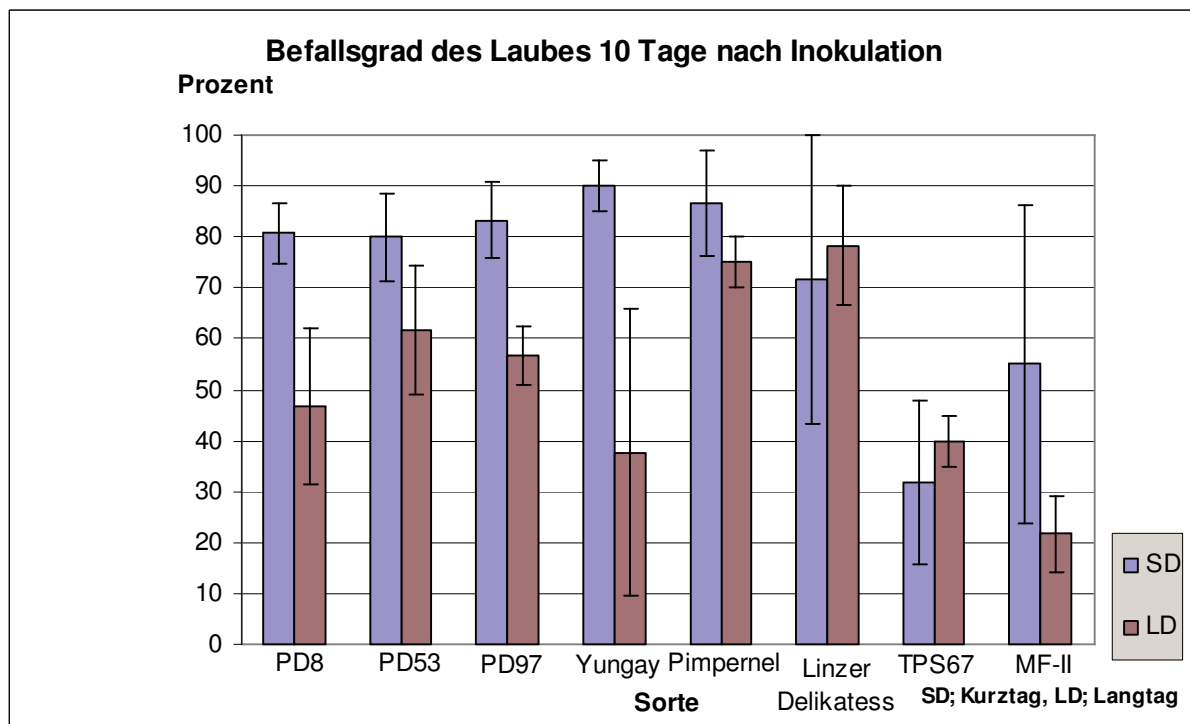
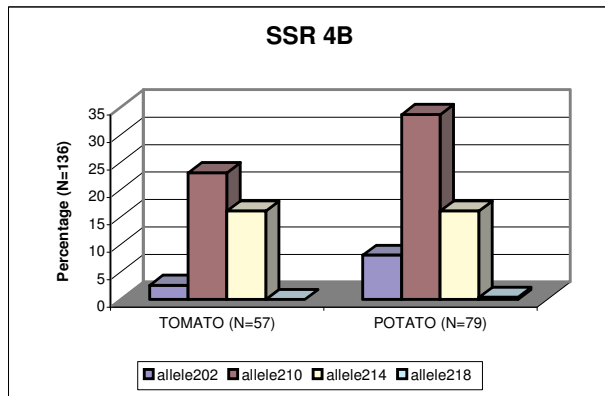


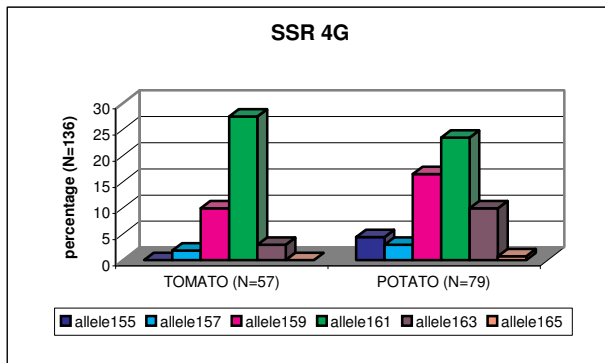
Abbildung 5.1. Gewächshausversuch zum Einfluss der Beleuchtungsdauer auf die *Phytophthora*-Resistenz, Dezember 2005-Februar 2006.



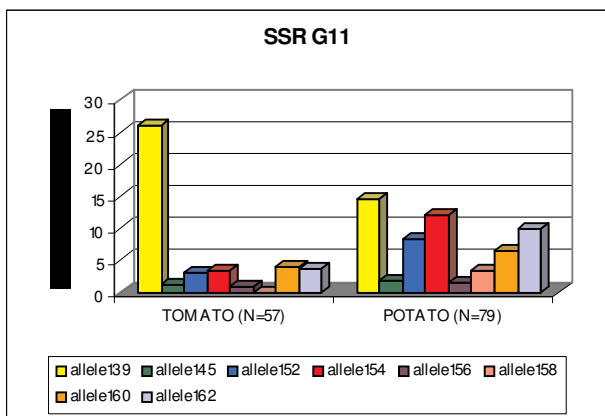
**Abbildung 7.2.1.** Frequenz der Allele im Genom von *P. infestans* Isolatn 2005 mit Mikrosatellit-Marker Pi4B.



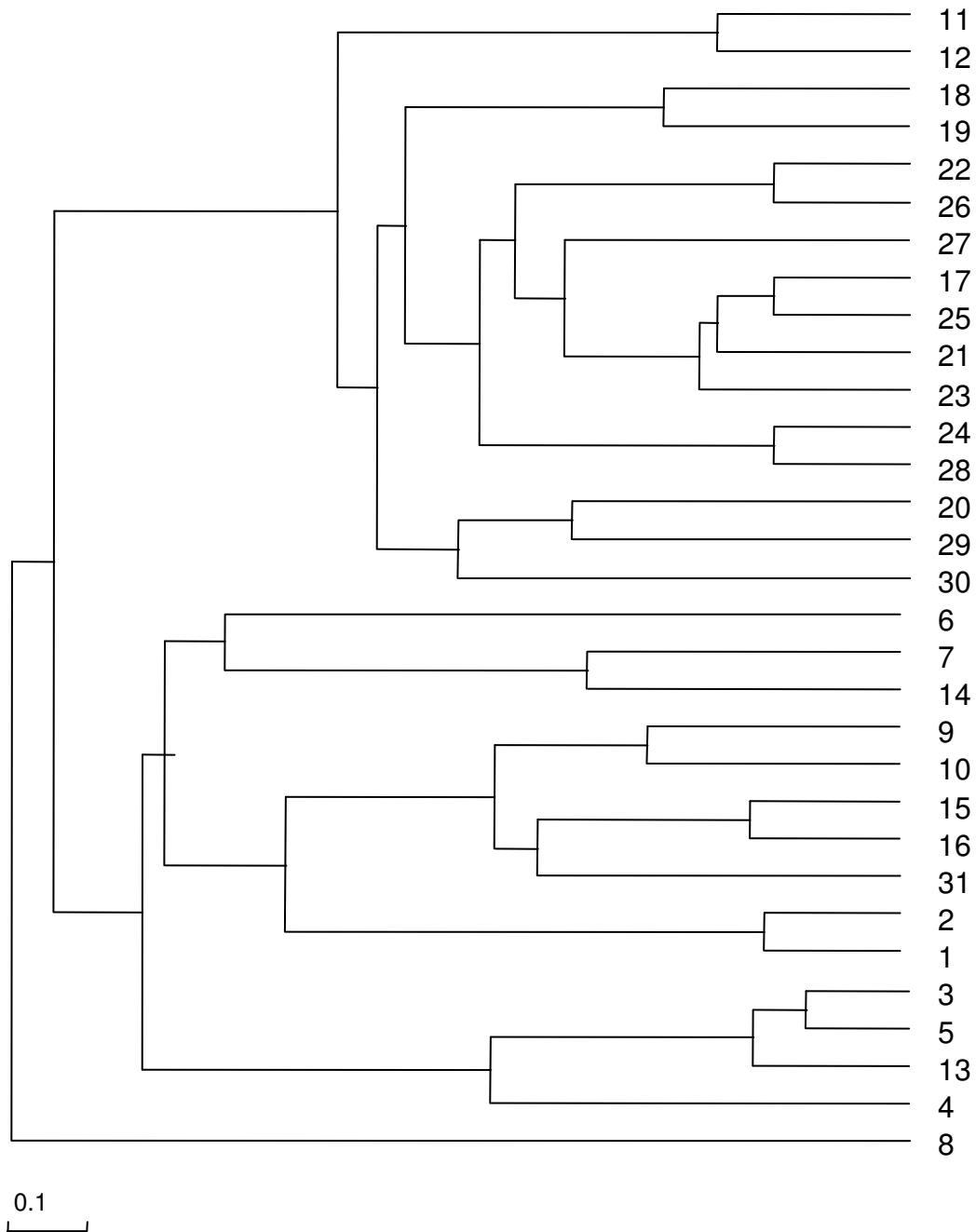
**Abbildung 7.2.2.** Frequenz der Allele im Genom von *P. infestans* Isolatn 2005 mit Mikrosatellit-Marker Pi4G.



**Abbildung 7.2.3.** Frequenz der Allele im Genom von *P. infestans* Isolatn 2005 mit Mikrosatellit-Marker PiG11.



**Abbildung 7.2.4. Dendrogramm (Jaccard similarity indexing) der genetischen Fingerabdrücke von 54 *P. infestans* Isolaten erhalten in wiederholten Probenahmen von insgesamt 21 verschiedenen Sorten und Zuchtstämmen aus dem Versuchsfeld in Meires 2005. Nummern auf der rechten Seite zeigen die Identität der Isolate.**



## Anhang A

### Kurzbericht der Niederösterreichische Saatbau Gen mbH über die Ergebnisse im gegenständlichen Projekt (Auszug).

Nieder-  
Österreichische  
Saatbaugesellschaft



MEIRES  
Windigsteig  
Tel. 02842/52402  
Fax: 52402-41  
UID-Nr.: ATU 16316706  
54329-14  
Hr. Reindl:  
662216

Hr. Bauer – Naglern: Tel. 02576/2910 Fax:  
2910-12  
Hr. Nigischer: Tel. 02842/53828 Fax:  
53828  
Hr. Kolm: Tel. 02822/54329 Fax:

An: ARC Seibersdorf  
z.Hd.: Herrn Dr. Bodo Trognitz

Von: Fuchs/Pö

Datum: 25.11.2005

Seiten(insges.): 5

**Betrifft: Gewünschte Auskünfte seitens der NÖS für den Abschlußbericht**

=====

...

Bei der Auswahl der A-Stämme (Ernte 2004) und B-Stämme (Ernte 2005) aus den Sämlingen 2003 wurde nach den üblichen Selektionskriterien vorgegangen, sodaß z.B. von der Kreuzungsnummer 95 nur mehr 6 Stämme übrig sind.

In Summe sind von den Sämlingen 2003 praktisch nur mehr 14 Stämme übrig. Vermutlich ist bei diesem Umfang die Wahrscheinlichkeit schon sehr gering bei der in den nächsten Jahren geplanten Phytophthora-Resistenzprüfungen auf dem Feld einen hoch resistenten Kreuzungspartner auszulesen.

Daher werden wir bei den Sämlingen 2004 und 2005 schon früher auf die gewünschten Phytophthora-Resistenzen prüfen. Es muß aber klar sein, daß nur solche Stämme aus diesem Programm als Kreuzungspartner von Interesse sind, die bereits einen deutlichen Fortschritt hinsichtlich Stolonlänge, Knollenform, Tiefe der Augen etc. gegenüber den in Seibersdorf eingesetzten Geniteuren zeigen.

Wie bereits in unserem letzten Gespräch erwähnt, sollten wir die in Seibersdorf eingesetzten Geniteure auf eventuell vorhandene zusätzliche Resistenzen überprüfen (an Hand von CIP-Beschreibungen).

Zu den bisher selektierten Stämmen kann gesagt werden, daß die äußere Qualität der Knollen im Durchschnitt bereits auf einem relativ hohen Niveau liegt und einige Stämme schon nahe an gängige Speisesorten herankommen.

Zu erwähnen wäre noch die Kreuzung K 123 (MF II. x TPS 67), die 2003 erstmalig auf dem Feld stand. Wir haben davon 7 Stämme selektiert, die sich das Jahr darauf als auffallend phytophthoraresistent zeigten. Leider haben wir von diesen sieben nur mehr teilweise virusfreies Material.

Unser Ziel ist es, möglichst viele Resistenzen aus dem Seibersdorfer Material mitzunehmen, d.h. die besten Stämme aus diesem Programm mit unseren erfolgreichsten Sorten zu kombinieren.

Bezüglich der Frage nach einer weiteren Zusammenarbeit mit Seibersdorf kann ich nur erneut betonen, daß natürlich großes Interesse besteht. Ich bin ganz Deiner Meinung, daß sich ein Züchter nicht ganz von der Forschung abkoppeln kann.

Entwicklung von molekularen Markern für die Selektion auf Resistenzeigenschaften, Nutzbarmachung von AMPS und Resistenzforschung bei Kartoffelkäfer sind weiterhin ein Thema für mich. Alleine ein ständiger Informationsfluß darüber, was im Forschungsbereich gerade im Kommen ist, kann für mich wichtig sein.

An welchen Projekten man sich entsprechend den finanziellen Möglichkeiten beteiligen kann oder nicht, muß von Fall zu Fall entschieden werden.

mit freundlichen Grüßen  
Felix Fuchs