

Pflanzenzüchtung für den Biolandbau – Resistenz gegen Zwergsteinbrand

Forschungsprojekt Nr. 100898
COBRA-Austria

Der österreichische Projektteil wird im Rahmen des europäischen ERA-Net-Projekts Core Organic II vom Bundesministerium für Land- und Forstwirtschaft, Umwelt und Wasserwirtschaft finanziell gefördert.

Univ. Prof. Hermann Bürstmayr & Mag. Almuth Müllner

Universität für Bodenkultur Wien
Department IFA Tulln
Biotechnologie in der Pflanzenproduktion
Konrad Lorenz Straße 20
A-3430 Tulln
Telefon: 0043 2272 66280 201
Email: hermann.buerstmayr@boku.ac.at
Web: <http://www.ifa-tulln.boku.ac.at/615.html>

Tulln, Oktober 2014

Inhaltsverzeichnis

EINLEITUNG	4
BESCHREIBUNG PROJEKT	6
TÄTIGKEITSBERICHT 2014.....	8
I. Allgemeine Anmerkungen 2014.....	8
1. Kooperationspartner	8
2. Budget.....	8
II. Tätigkeiten und Ergebnisse 2014	9
1. Erschließung neuer Resistenzquellen.....	9
2. Genetische Kartierung von Resistenzgenen	9
2.1. Erstellen von Kartierungspopulationen.....	9
2.2. Resistenzprüfung von Kartierungspopulationen	9
a. Ergebnisse Zwergsteinbrand Resistenzprüfungen 2014	10
b. Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfungen 2014.....	15
2.3. Auswahl von Kartierungspopulationen	19
3. Weitere Tätigkeiten.....	19
III. Ausblick Tätigkeiten 2015.....	19
ZUSAMMENFASSUNG	23
Literatur.....	24

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1 Übersicht Arbeitspakete 2013 bis 2016 für COBRA-Austria	7
Tabelle 2 Übersicht COBRA Partner	8
Tabelle 3 Übersicht Budget und Arbeitsaufwand	8
Tabelle 4 Übersicht Kartierungspopulationen 2014	12
Tabelle 5 Übersicht Versuchsstandorte Österreich 2014	13
Tabelle 6 Übersicht Versuchsstandorte COBRA Partner 2014	13
Tabelle 7 Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Kartierungspopulationen	15
Tabelle 8 Übersicht Kartierungspopulationen 2015	21
Tabelle 9 Übersicht Versuchsstandorte Österreich und USA 2015	22
Tabelle 10 Übersicht Versuchsstandorte COBRA Partner 2015	22

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1 Ergebnisse Zwergsteinbrand Resistenzprüfung 2014: Elternlinien.....	14
Abbildung 2 Ergebnisse Zwergsteinbrand Resistenzprüfung 2014: Differentialsortiment.....	14
Abbildung 3 Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Kartierungspopulationen.....	16
Abbildung 4 Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Elternlinien	18

EINLEITUNG

Entsprechend ökologischer Richtlinien (EU Bio Verordnungen 834/2007 und 889/2008) darf Saatgut im Biolandbau nicht gebeizt werden. Deswegen sind Sorten, welche Resistenzen gegenüber samen- und bodenbürtigen Krankheiten wie gewöhnlichem Steinbrand (verursacht durch *Tilletia caries* und *Tilletia foetida*) und Zwergsteinbrand (verursacht durch *Tilletia controversa*) aufweisen, von besonderem Interesse. Besonders Zwergsteinbrand stellt eine Herausforderung für den Biolandbau dar, da er – anders als der gewöhnliche Steinbrand – bodenbürtig ist und somit nicht mittels Saatguthygiene bekämpft werden kann. Aufgrund fehlender pflanzenbaulicher Bekämpfungsmöglichkeiten bleibt Landwirten auf verseuchten Bio Flächen oftmals einzig die Option, auf Winterweizen Anbau ganz zu verzichten. Der Frage der Sortenresistenz in Winterweizen gegenüber Zwergsteinbrand kommt daher eine große Bedeutung zu.

Die Genetik der Resistenz ist wenig erforscht. Phänotypisch wurden für Weizen 14 Differentialsorten identifiziert, welche jeweils eines der Gene Bt1 bis Bt13 und BtP tragen, die rassenspezifische Resistenz gegenüber Steinbrand bzw. Zwergsteinbrand vermitteln (Hoffmann & Metzger 1976; Metzger & Hoffmann 1978; Goates 1996). Nur 6 dieser Bt Gene (Bt1, Bt4, Bt5, Bt6, Bt7, Bt10) konnten bis *dato* spezifischen Weizen Chromosomen zugeordnet – also grob kartiert – werden (Zusammenfassung in Matanguihan & Murphy 2011). Weiters konnten verschiedene QTL (Quantitative Trait Loci) in Weizen identifiziert werden, welche unvollständige aber rassenspezifische Resistenz gegenüber Steinbrand vermitteln (Fofana et al. 2007; Wang et al. 2009; Dumalasová et al. 2012). Einzig für Bt10 stehen zum jetzigen Zeitpunkt molekulare Marker zur Verfügung stehen, welche in der Praxis Verwendung finden (Laroche et al. 2000).

Zur Wirksamkeit von Resistenzgenen in Österreich, und somit auch das Rassenspektrum von Steinbrand und Zwergsteinbrand betreffend, wurde bisher nur eine Untersuchung veröffentlicht (Huber & Buerstmayr 2006). Gegen Steinbrand wirksame Resistenzgene sind demnach Bt4, Bt5, Bt6, Bt8, Bt9, Bt10, Bt11, Bt12, BtP. Nur ein Teil des Differentialsortiments wurde auch auf Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand getestet (Bt8, Bt9, Bt10, Bt12, Bt13, BtP): Besonders interessant ist, dass von diesen die gegen Steinbrand wirksamen Bt Gene Bt8, Bt9 und Bt10 *keine* Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand vermitteln konnten. Zusammen mit vorläufigen Ergebnissen aus unserem Projekt kann man zum jetzigen Zeitpunkt davon ausgehen, dass von den beschriebenen Bt-Genen einzig Bt11 und Bt12 stabile Resistenz gegen beide Brand-Krankheiten vermitteln.

Züchtungsbemühungen betreffend Steinbrand und Zwergsteinbrand Resistenz sind mit dem Aufkommen von wirkungsvollen Beizmitteln in den 50er Jahren des 20. Jahrhunderts in den Kinderschuhen steckengeblieben. Die klassische ausschließlich feldbasierte (phänotypische) Resistenzzüchtung für beide Krankheiten ist zeit- und kostenintensiv und diese zusätzlichen Aufwände können von den Züchtern in der Regel nicht gerechtfertigt werden. Im Gegensatz zur phänotypischen Selektion am Feld kann die Selektion mittels molekularer Marker relativ einfach in ein Zuchtprogramm integriert, und geeignetes Zuchtmaterial rasch und günstig bereits in frühen Generationen

identifiziert werden. Voraussetzung für die Anwendung molekularer Markertechnologie in der Sortenentwicklung ist die Entwicklung von verlässlichen Markern: diese benötigt jedoch einen beträchtlichen wissenschaftlichen und finanziellen Aufwand.

Das Projekt „Pflanzenzüchtung für den Biolandbau – Resistenz gegen Zwergsteinbrand“ hat zum Ziel, Abschnitte im Weizengenom, welche solide Resistenz gegen Zwergsteinbrand vermitteln, zu kartieren und molekulare Marker für diese zu entwickeln. Molekulare Marker werden die Selektion von regional angepassten Sorten mit optimaler Steinbrand- und Zwergsteinbrand-Resistenz ermöglichen. Solche Sorten sind für den biologischen Weizenanbau in mittleren und höheren Lagen Österreichs (Alpenvorland, Mühl- und Waldviertel) dringend erforderlich: Wir müssen davon ausgehen, dass durchwegs alle (!) Winterweizen Sorten, von denen derzeit Saatgut in Bioqualität angeboten wird, hoch anfällig sind.

BESCHREIBUNG PROJEKT

Das Projekt „Pflanzenzüchtung für den Biolandbau – Resistenz gegen Zwergsteinbrand“ soll einen Beitrag zur Verminderung der jährlich durch Zwergsteinbrand verursachten Schäden für Österreichs Landwirtschaft leisten, und hat die Bewerkstellung folgender Arbeitspakete zur Aufgabe:

1. Erschließung von neuen, wirksamen Resistenzquellen
2. Genetische Kartierung von Resistenz Genen in hoch resistentem Zuchtmaterial
3. Entwicklung von molekularen Markern für die Anwendung in der Züchtung
4. Bereitstellung von resistenten Zuchtlinien an die praktischen Weizenzüchter

Eine Übersicht der Arbeitspakete und der einzelnen Arbeitsschritte für die 3 Projektjahre wird in Tabelle 1 gegeben. Der Arbeitsschwerpunkt des vorliegenden Projektes liegt auf der genetischen Kartierung von Zwergsteinbrand Resistenz Genen und der (damit einhergehenden) Entwicklung von molekularen Markern für Zwergsteinbrandresistenzen, um in Folge in der praktischen Weizenzüchtung frühes Zuchtmaterial auf Resistenz hin testen zu können.

In Vorarbeiten wurden in Zusammenarbeit mit Dr. Herbert Huss vom Institut für Biologische Landwirtschaft LFZ Raumberg-Gumpenstein Versuche zur Charakterisierung der Zwergsteinbrand Resistenz in Winterweizen durchgeführt. Einige hoch resistente Winterweizen Linien konnten auf diese Weise identifiziert werden: Bei diesen handelt es sich einerseits um alte Landsorten aus der Türkei, andererseits um Sorten aus den USA – also „exotisches“, an unsere österreichischen Anbaubedingungen *nicht* angepasstes Zuchtmaterial. Es wurden mehrere Kartierungspopulationen erstellt, welche auf Kreuzungen zwischen diesen hoch resistenten (Land-) Sorten und agronomisch angepassten aber steinbrandanfälligen heimischen Sorten basieren. Diese Kartierungspopulationen umfassen jeweils ca. 100 homozygote Kreuzungsnachkommen, welche wir in mehrjährigen Feldversuchen auf Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand prüfen. Ausgewählte Kartierungspopulationen werden mittels GBS-marker (genotyping-by-sequencing) genotypisiert werden. Die gemeinsame statistische Auswertung der phänotypischen und genotypischen Daten wird uns ermöglichen, Lage und Wirkung jener Abschnitte im Weizengenom zu bestimmen, welche Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand (Steinbrand) vermitteln und die Entwicklung geeigneter molekularer Marker erlauben. Im Rahmen des Projektes identifizierte, resistente Zuchtlinien werden als Kreuzungseltern für die Sortenzüchtung bereitgestellt.

Unser Projekt (Akronym: „COBRA-Austria“) wird im Rahmen des Core-Organic II (ERA-NET) Projektes COBRA (Coordinating Organic plant Breeding Activities for diversity) realisiert: Es ist Teil von WP1 Task 1.2, welcher schwerpunktmäßig samenbürtige Krankheiten zum Thema hat. Im Zuge der der Projektentwicklung haben wir uns entschieden (in Ergänzung zum ursprünglichen Vorhaben) unsere Kartierungspopulationen auch auf Resistenz gegenüber Gewöhnlichen Steinbrand zu testen, um so zusätzliche Informationen bezüglich der Beziehung Resistenz gegen Steinbrand - Resistenz gegen Zwergsteinbrand zu erlangen, und nicht zuletzt auch, um molekulare

Marker zu entwickeln, welche in der Resistenzzüchtung gegen beide Krankheiten verwendet werden können.

Tabelle 1 Übersicht Arbeitspakete 2013 bis 2016 für COBRA-Austria

	Vorarbeiten bis 2013	Jahr 1 2014	Jahr 2 2015	Jahr 3 2016
Erschließung neuer Resistenzquellen	xx	x	x	x
Genetische Kartierung von Resistenzgenen				
Erstellen von Kartierungspopulationen	xxx			
Resistenzprüfung von Kartierungspopulationen	x	xx	xxx	xxx
Auswahl von Kartierungspopulationen		xx	xx	
Genotypisieren von 2-3 Kartierungspopulationen			xx	
Statistische Auswertung der Daten		x	xx	xxx
Entwicklung molekularer Marker				xx
Bereitstellung von Zuchtlinien				x
Weitere Tätigkeiten				
Stakeholdermeeting M6		x		
Stakeholdermeeting M30			x	

Grau unterlegt sind die 2014 durchgeführten Tätigkeiten, welche im Teil II. dieses Zwischenberichtes im detailliert beschrieben werden (x-xxx: Intensität Arbeitsaufwand).

TÄTIGKEITSBERICHT 2014

Im Folgenden sind allgemeine Anmerkungen betreffend Kooperationspartner, Budget und Arbeitsaufwand, ein ausführlicher Bericht für das Versuchsjahr 2014 und ein Ausblick auf das nächste Versuchsjahr für das Projekt „Pflanzenzüchtung für den Biolandbau – Resistenz gegen Zwergsteinbrand“ zu finden.

I. Allgemeine Anmerkungen 2014

1. Kooperationspartner

Als Vertreter Österreichs im COBRA Projekt liegt uns sehr an einer engen Vernetzung mit Partnern aus dem Ausland. Es freut uns, dass wir mit den in Tabelle 2 angeführten COBRA Partnern einen regen Austausch pflegen: Dies betrifft einerseits die Durchführung von Resistenzprüfungen auf auswärtigen Flächen, andererseits natürlich auch den Wissensaustausch. Besonders freuen wir uns, dass wir auch Prof. David Hole von der Utah State University (USA) als Kooperationspartner für Zwergsteinbrand Resistenzprüfungen im Versuchsjahr 2015 gewinnen konnten.

2. Budget

Tabelle 3 liefert eine Auflistung der bis jetzt angefallenen Projektkosten und verbrauchten Personenmonate.

Tabelle 2 Übersicht COBRA Partner

Land	Institut, Kontaktperson
Tschechien	Crop Research Institute (CRI), Dr. V. Dumalasova
Deutschland	Bayrische Landesanstalt für Landwirtschaft (LFL), Dr. B. Killermann, Dr. B. Voit, DI R. Bauer
Schweden	Swedish University of Agricultural Sciences (SLU), Dr. I. Ahmann
Dänemark	Agrologica, Dr. A. Borgen

Tabelle 3 Übersicht Budget und Arbeitsaufwand

Budget	Gesamt	Verbraucht
Personalkosten €	140 460.00	41 158.68
Verbrauchsmaterialkosten €	17 000.00	8 522.11
Andere Kosten €	9 200.00	4 452.69
Kosten €	166 660.00	54 133.48
Gemeinkosten 20% €	33 332.00	10 826.70
Gesamtkosten €	199 992.00	64 960.18
Personenmonate	49	16

Stand 31.08. 2014

II. Tätigkeiten und Ergebnisse 2014

Im Folgenden werden die für das Jahr 2014 geplanten und auch durchgeführten Tätigkeiten (siehe Tabelle 1, S.7) ausführlich beschrieben.

1. Erschließung neuer Resistenzquellen

In das Vergleichssortiment unserer Resistenzprüfungen inkludieren wir jeweils interessante Genbankeinträge, welche potentielle neue Resistenzquellen darstellen, damit uns mit Projektabschluss neue resistente Kreuzungspartner zur Verfügung stehen. Mehrjährige Resistenzprüfungen sind notwendig, um zu aussagekräftigen Ergebnissen zu kommen, so dass diese erst im Abschlussbericht 2016 publiziert werden.

2. Genetische Kartierung von Resistenzgenen

Die Hauptarbeit unseres Projektes umfasst die genetische Kartierung von Resistenzgenen, und besteht aus mehreren Arbeitsschritten (siehe Tabelle 1), von denen die Resistenzprüfung von Kartierungspopulationen in mehrjährigen Feldversuchen sicherlich der arbeitsintensivste ist.

2.1. Erstellen von Kartierungspopulationen

In Vorarbeiten wurden mehrere Kartierungspopulationen erstellt, welche auf Kreuzungen zwischen hoch resistenten exotischen Sorten und anfälligen heimischen Sorten basieren. Die Nachkommenschaften dieser Kreuzungen wurden über Einkorn-Ramsche bis zur F5 Generation weitergeführt, so dass uns nun für unser Projekt je Kreuzung rund 100 weitgehend homozygote RILs (Recombinant Inbred Lines) in ausreichender Saatgutmenge zur Verfügung stehen. Die insgesamt 20 Kartierungspopulationen basieren auf Kreuzungen zwischen 9 resistenten und 5 anfälligen Elternlinien. Von 10 dieser Kartierungspopulationen gab es bereits für die Versuche 2014 ausreichend homozygoten Material; Für die Versuchsjahre 2015 und 2016 steht uns das gesamte Repertoire zur Verfügung. *Tabelle 4* liefert eine Übersicht über die Kartierungspopulationen.

2.2. Resistenzprüfung von Kartierungspopulationen

2014 wurden in Feldversuchen Resistenztests gegen Zwergsteinbrand und – in geringerem Umfang gegen Gewöhnlichen Steinbrand durchgeführt. *Tabelle 5* listet alle Versuchsstandorte 2014 und die detaillierten Versuchsbedingungen auf. Insgesamt wurden 10 Kartierungspopulationen, welche 6 Resistenzgruppen zugeordnet werden können, auf Zwergsteinbrand Resistenz an unserem Hauptversuchsstandort Schönfeld getestet; 3 davon wurden auch am Standort Lambach geprüft. 4 Kartierungspopulationen, wurden in Tulln zusätzlich auf Resistenz gegenüber Steinbrand getestet. *Tabelle 4* bietet einen Überblick über die 2014 verwendeten Kartierungspopulationen.

Zusätzlich zu den Kartierungspopulationen selbst wurden in allen Versuchen die resistenten und anfälligen Elternlinien, Vergleichslinien, und das gesamte Differentialsortiment getestet. Weiters wurden alle Elternlinien, und Vergleichslinien und

das Steinbrand-Differentialsortiment in größtmöglichem Umfang an zusätzlichen Standorten im Ausland bei COBRA Partnern auf Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand und Steinbrand getestet. Tabelle 6 listet die Feldversuche, die 2014 bei COBRA Partnern durchgeführt wurden, auf. In all unseren Versuchen dient uns die Sorte Capo, welche die in Österreich nach wie vor am weitesten verbreitete Winterweizen Sorte im biologischen Landbau ist und rund ein Drittel der biologischen (Qualitäts-)Winterweizenanbaufläche einnimmt, als Standard: Capo ist sowohl gegenüber Zwergsteinbrand als auch gewöhnlichem Steinbrand hoch anfällig, und lässt Rückschlüsse auf den Erfolg der künstlichen Infektion mit Zwergsteinbrand / Steinbrand Sporen zu.

a. Ergebnisse Zwergsteinbrand Resistenzprüfungen 2014

Kartierungspopulationen

Die Zwergsteinbrand Feldversuche, welche 2014 in Österreich durchgeführt wurden, lieferten aufgrund der für die Krankheitsentwicklung ungünstigen Witterungsbedingungen im Winter 2013/14 (warmer und sehr schneearmer Winter auch in mittleren Höhen) und dem daraus resultierenden, sehr geringen Befallsdruck mit Zwergsteinbrand leider keine aussagekräftigen Ergebnisse. Bekanntermaßen ist es relativ schwer, künstlich eine starke Zwergsteinbrand Infektion zu provozieren, da dieser – im Gegensatz zu gewöhnlichem Steinbrand – sehr sensibel auf Abweichungen von den optimalen Bedingungen reagiert: Eine durchgehende Schneedecke sorgt für stabil niedrige Temperaturen (3-8°C), hohe Luftfeuchtigkeit und spezielle Lichtverhältnisse, welche für eine erfolgreiche Krankheitsentwicklung notwendig sind (Goates 1996). Für das vorliegende Projekt ist es also besonders wichtig, mehrere Versuchsjahre zur Verfügung zu haben, um zu aussagekräftigen Ergebnissen zu kommen. Dies ist der Grund weshalb trotz künstlicher Inokulation mit Zwergsteinbrand Sporen mehrjährig und über mehrere Orte geprüft werden muss. Der Zwergsteinbrand-Befall bei Capo betrug in Schönfeld nur 2.9% (SD=2.2, n=3) in Lambach 2.3% (SD=1.3, n=31). Im Vergleich dazu: In Versuchen 2006 – einem dezidierten „Zwergsteinbrandjahr“ – konnte bei Capo ein Befall von 85.3% (SD=8.7, n=14) induziert werden, ein Ergebnis, welches wohl eine ideale Voraussetzung für eine Auswertung der Kartierungspopulationen darstellen würde. In Lambach konnte 2013 bei Capo immerhin ein Zwergsteinbrand Befall von 18.4% (SD=8.9, n=3) erreicht werden. Dieser Befall erwies sich insgesamt zu gering um unsere Kartierungspopulationen informativ auswerten zu können (siehe Zwischenbericht 2013); jedoch als gut genug, um Informationen über Elternlinien, Vergleichslinien, und das Differentialsortiment zu erhalten.

Elternlinien, Differentialsortiment

Zusätzlich wurden alle Elternlinien, und in jeweils größtmöglichem Umfang Vergleichslinien und das Differentialsortiment auf Zwergsteinbrand Resistenz bei COBRA Partnern in Tschechien und Deutschland geprüft (siehe Tabelle 6). Der Befall an beiden Standorten, erfreulicherweise auch auf den natürlich infizierten Flächen, war ausreichend, um aussagekräftige Ergebnisse zu erlangen: Capo zeigte in Tschechien einen Befall von 20.9% (SD=7, n=8), in Deutschland konnte einen Befall von 5.5% (SD=2, n=2) festgestellt werden. Die Ergebnisse (Abbildung 1) stimmen mit den

Ergebnissen unserer Zwergsteinbrand Resistenzprüfung in Lambach 2013 überein, und zeigen, dass unsere Resistenzquellen nicht nur in Österreich, sondern auch in

Deutschland und Tschechien Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand vermitteln und somit breit wirksame Resistenzgene enthalten.

Die Reaktion der Differentiallinien zeigt, dass Bt11, Bt12 und Bt13 wirksamen Schutz gegen Zwergsteinbrand Befall vermitteln. Bt8 und Bt9 fehlen dieses Jahr, da zu wenig Saatgut zur Verfügung stand. Frühere Untersuchungen (2006) legen nahe, dass Bt8, Bt9 und Bt10 *keinen* effizienten Schutz gegen Zwergsteinbrand in Österreich vermitteln (Abbildung 2).

Table 4 Übersicht Kartierungspopulationen 2014

Resistenzgruppe	Nr.	Kartierungspopulation	2014	Schönfeld	Lambach	Tulln
				Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Steinbrand
Blizzard	1	Blizzard/Rainer				
Bonneville	2	Bonneville/Midas				
	3	Bonneville/Rainer	x	94		
7021102C	4	7021102C/Rainer				
GoldenSpike	5	GoldenSpike/Midas				
	6	GoldenSpike/Pannonikus				
	7	GoldenSpike/Rainer				
M822123	8	M822123/Rainer	x	98	98	
PI119333	9	PI119333/Midas				
	10	PI119333/Pannonikus				
	11	PI119333/Rainer	x	85		85
	12	PI119333/Tommi	x	15		46
PI178383	13	PI178383/Midas	x	71		71
	14	PI178383/Rainer	x			7
PI560841	15	PI560841/Midas	x	28		
	16	PI560841/Rainer	x	72		
PI560795	17	PI560795/Pannonikus				
	18	PI560795-1/Tommi	x	77		
	19	PI560795-2/Mulan				
	20	PI560795-2/Rainer	x	94	94	
	Ext	Blizzard/8405-JC3C	x	128	128	

Grau unterlegt sind die 2014 verwendeten Kartierungspopulationen und Resistenzquellen, für die einzelnen Standorte ist auch die Anzahl der verwendeten Linien angegeben.

Tabelle 5 Übersicht Versuchsstandorte Österreich 2014

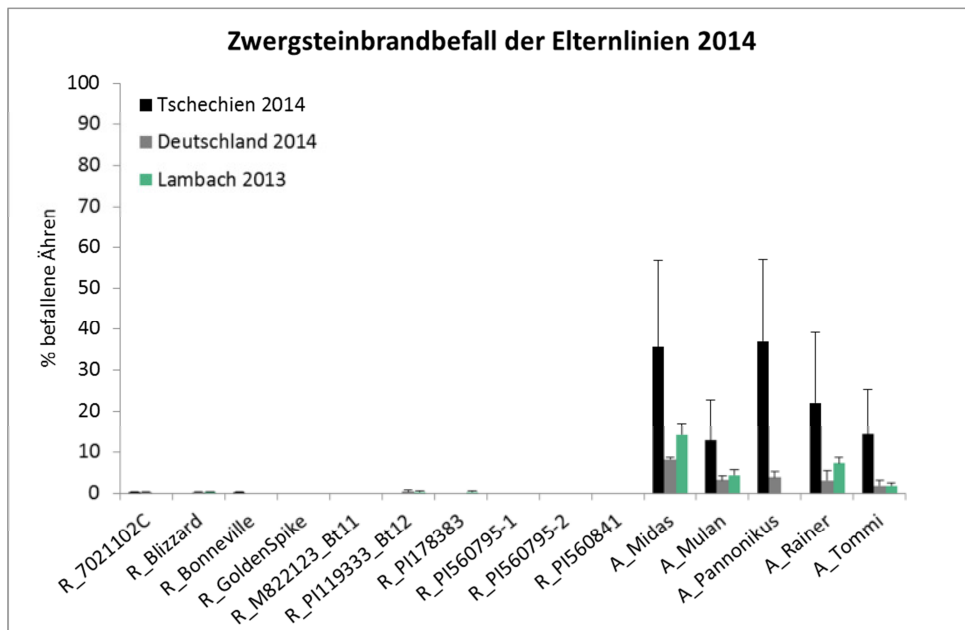
	Schönfeld	Lambach	Tulln
Resistenzprüfung 2014	Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Steinbrand
Pflege Bestand	Konventionell	Biologisch	Konventionell
Aussaat	11.10.2013	13.10.2013	08.11.2014
Saatstärke (kg/ha)	180	180	180
Parzellengröße (m ²)	0.75	1.00	0.50
Parzellengröße (Reihen a 1-1.5m)	3	10	2
Versuchsaufbau	RCB, 3 Blöcke	RCB, 3 Blöcke	RCB, 2 Blöcke
Anzahl Kartierungspopulationen	10	3	4
Größe Kartierungspopulation	15-98	94-98	7-85
Anzahl Parzellen Versuch	906x3	380x3	290x2
Eltern-, Vergleichslinien, Differentialsortiment	Ja	Ja	Ja
Anzahl Parzellen Extern (inkl. COBRA Partner)	120	0	31
Europäischer Ringtest	Nein	Nein	Nein
Inokulation (Oktober/November)	Boden	Boden	Saatgut
Sporen Konzentration	0.4 g/m²	0.4 g/m²	0.5-1g/100g
Abdeckung Vlies (November-April)	Ja	Ja	Nein
Erfolgreiche Infektion	Nein	Nein	Ja
Capo % Befall	2.9 (SD=2.2, n=3)	2.3 (SD=1.3, n=31)	76.0 (SD=7.1, n=2)

Konventionelle Versuche wurden unter Low Input Bedingungen durchgeführt (minimale Düngung und Unkrautbekämpfung, keine Fungizidbehandlung), beim Versuchsanbau handelte es sich um ein Randomized Complete Block Design (RCB).

Tabelle 6 Übersicht Versuchsstandorte COBRA Partner 2014

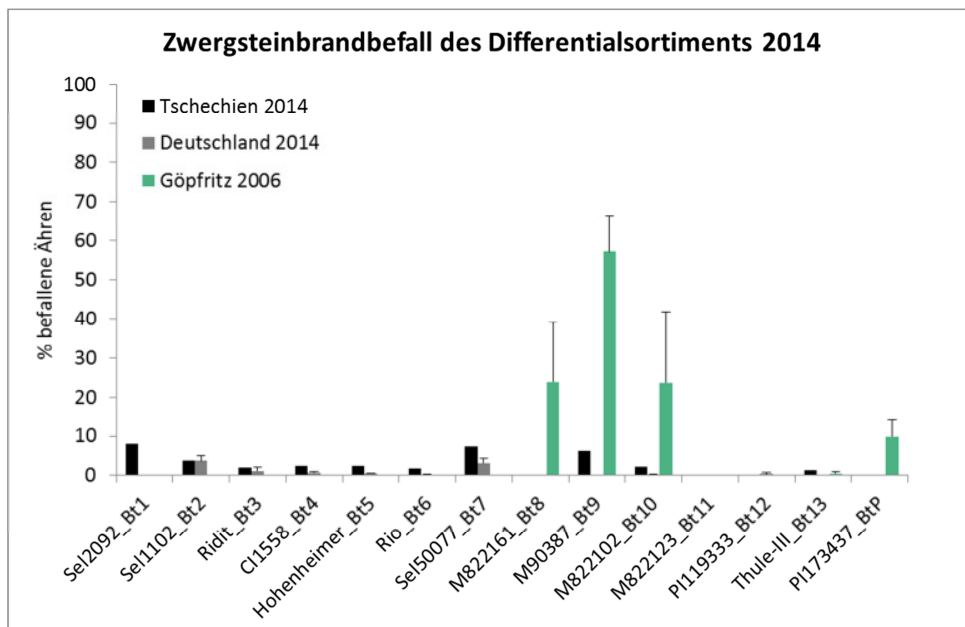
	Tschechien	Deutschland	Schweden
Resistenzprüfung 2014	Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Steinbrand
Eltern-, Vergleichslinien, Differentialsortiment	Ja	Ja	Ja
Inokulation (Oktober/November)	Boden	Boden (natürlich)	Saatgut
Erfolgreiche Infektion	Ja	Ja	Ja
Capo % Befall	20.9 (SD=7.2, n=8)	5.5 (SD=2.0, n=2)	96.6 (SD=3.3, n=2)

Abbildung 1 Ergebnisse Zwergsteinbrand Resistenzprüfung 2014: Elternlinien



R_ markiert resistente, A_ anfällige Elternlinien.

Abbildung 2 Ergebnisse Zwergsteinbrand Resistenzprüfung 2014: Differentialsortiment



b. Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfungen 2014

Der Steinbrand Feldversuch, der 2014 mit 4 Kartierungspopulationen in Tulln durchgeführt wurde, konnten aufgrund der sehr erfolgreichen künstlichen Infektion informativ ausgewertet werden. Der Steinbrand Befall bei Capo betrug 76% (SD= 7.1, n=2). Die Qualität des Versuches, welche aus der guten Korrelation ($r>0.9$, $p<0.05$) der Werte der 2 Wiederholungen hervorgeht, war sehr zufriedenstellend (Abbildung 3).

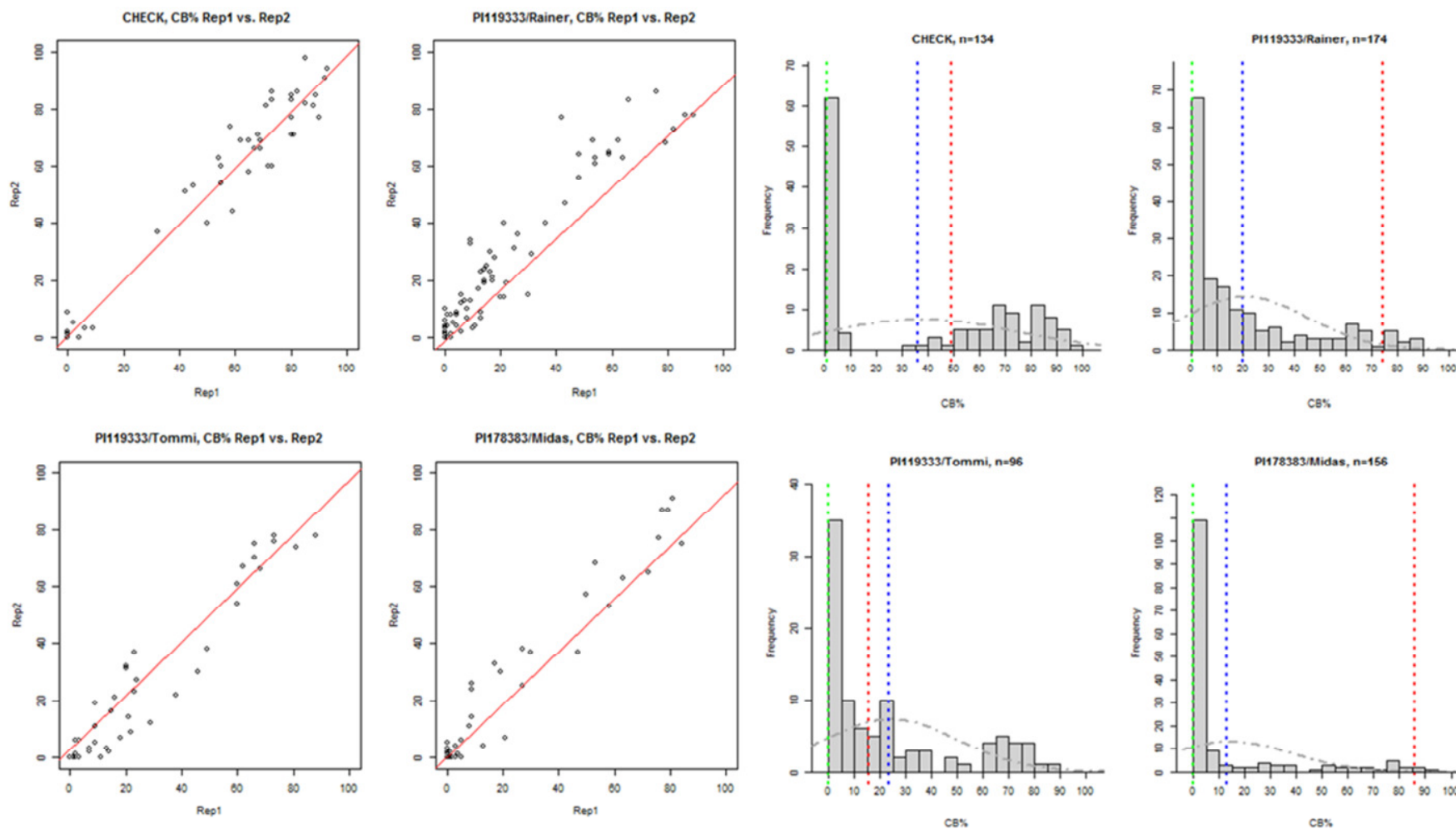
Kartierungspopulationen

Insgesamt wurden 4 Kartierungspopulationen in Tulln auf Resistenz gegenüber gewöhnlichem Steinbrand getestet. In diesem Zwischenbericht werden die Ergebnisse für die Populationen PI178383/Rainer (n=7) aufgrund ihrer geringen Anzahl an Linien 2014 vernachlässigt. Tabelle 7 und Abbildung 3 stellen die Ergebnisse im Überblick dar: Sowohl zwischen den Populationen, als auch zwischen den Linien der jeweiligen Populationen konnten signifikante Unterschiede ($p<0.05$) für Steinbrandbefall festgestellt werden. Die in den Histogrammen abgebildete Häufigkeitsverteilung von anfälligen und resistenten Linien innerhalb der jeweiligen Populationen konnte uns Hinweise auf Anzahl und Wirkung von vorhandenen Resistenzgenen geben bzw. Vermutungen bestätigen. Für diejenigen Populationen, welche PI19333 als resistenten Elter enthalten, entspricht das Verhältnis von resistenten zu anfälligen Linien 1:1 (Chi-Quadrat Test, $p>0.05$) und bestätigt die Vermutung, dass PI19333 Träger *eines* dominant wirkenden Resistenzgens (wahrscheinlich Bt12) ist. Für PI178383, eine Linie, die vermutlich Bt8, Bt9 und Bt10 trägt, entspricht das Spaltungsverhältnis 3:1 und deutet darauf hin, dass 2 gleichwertige nicht gekoppelte Resistenzgene – in Kombination bzw. auch einzeln – eine wirksame Resistenz bewerkstelligen. Die für alle Populationen beobachtete Variabilität im anfälligen Bereich (10-100% Befall) legt die Vermutung nahe, dass der „modifizierende“ Effekt sogenannter „Minor Genes“ (nur dann) zum Tragen kommt, wenn eine Linie beide anfälligen Allele aufweist.

Tabelle 7 Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Kartierungspopulationen

Population	% Befall	SD	Min	Max	n=	Verteilung
CHECK	36.0	36.6	0	98	134	/
Capo	76.0	7.1	71	81	2	
Weston	0.0	0.0	0	0	2	
PI19333/Rainer	20.2	24.9	0	89	174	1:1
PI19333_Bt12	0.5	0.7	0	1	2	
Rainer	74.5	12.0	66	83	2	
PI19333/Tommi	23.3	26.7	0	88	96	1:1
PI19333_Bt12	0.0	0.0	0	0	2	
Tommi	15.5	0.7	15	16	2	
PI178383/Midas	12.8	24.4	0	91	156	3:1
PI178383	0.0	0.0	0	0	2	
Midas	86.0	7.1	81	91	2	

Abbildung 3 Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Kartierungspopulationen



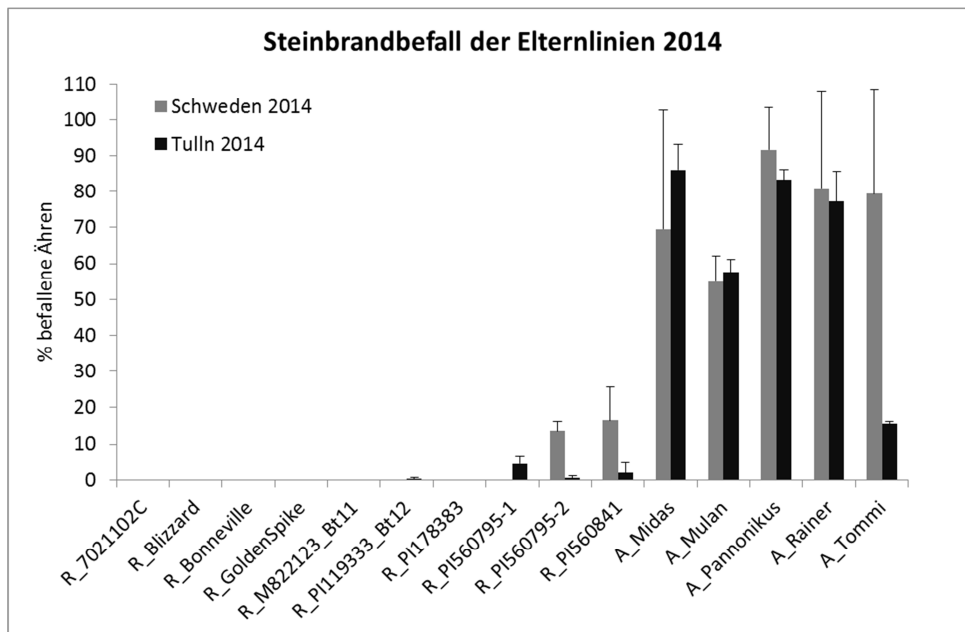
Korrelationsplots: Korrelation der Befallswerte für Wiederholung 1 und 2, Histogramme: Häufigkeitsverteilung von anfälligen und resistenten
 Linien, grün: Mittelwert resistente Elternlinie, blau: Populationsmittelwert, rot: Mittelwert anfällige Elternlinie.

Elternlinien, Differentialsortiment

Zusätzlich wurden alle Elternlinien, und in jeweils größtmöglichem Umfang Vergleichslinien und das Differentialsortiment auf Steinbrand Resistenz bei unserem COBRA Partner in Schweden geprüft (Tabelle 6). Die künstliche Infektion mit Steinbrand hat auch in Schweden sehr gut funktioniert: Capo zeigte hier einen Befall von 96.6% (SD=3.3, n=2). Alle resistenten Eltern hielten dem Befallsdruck in Tulln stand; PI560795-2 und PI560841 lieferten jedoch etwas unklare Ergebnisse in Schweden, sodass wir gespannt die Ergebnisse des nächsten Prüfjahres erwarten (Abbildung 4).

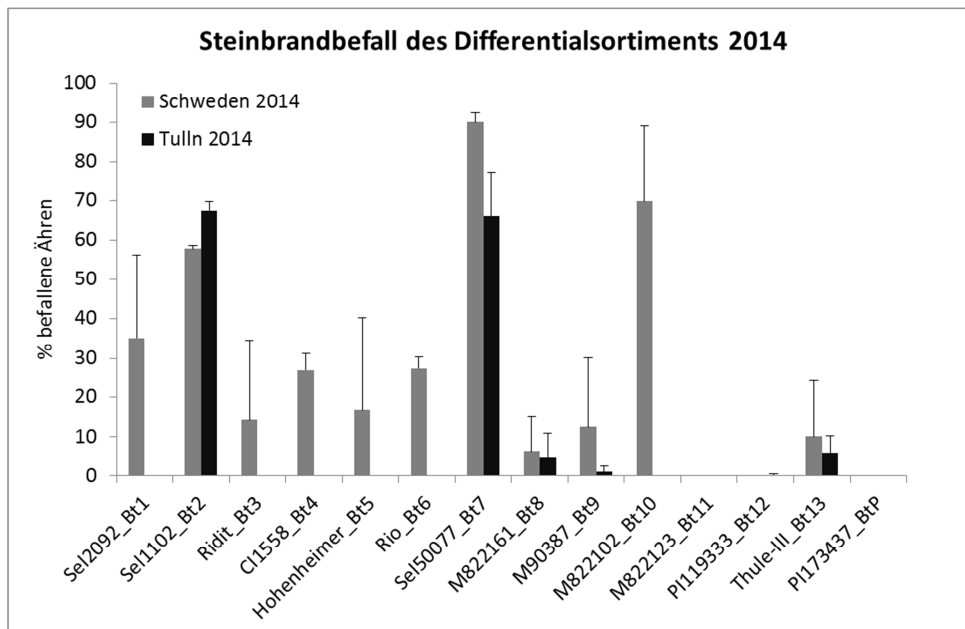
Die Reaktion der Differentiallinien zeigt, dass Bt11, Bt12 und BtP wirksamen Schutz gegen Steinbrand Befall vermitteln. Die Resistenzprüfung des Differentialsortiments deutet darauf hin, dass das in Schweden verwendete Inokulum ein breiteres Virulenzspektrum aufweist als das in Österreich verwendete.

Abbildung 4 Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Elternlinien



R_ markiert resistente, A_ anfällige Elternlinien.

Abbildung 5 Ergebnisse Steinbrand Resistenzprüfung 2014: Differentialsortiment



2.3. Auswahl von Kartierungspopulationen

Die im vorliegenden Projekt verwendeten Kartierungspopulationen wurden in Vorarbeiten zum Projekt erstellt. Für das Versuchsjahr 2015 stehen uns nun erstmals von allen Kartierungspopulationen homozygote Linien in ausreichender Saatgutmenge zur Verfügung. Aus den zur Verfügung stehenden Populationen wurde eine Vorauswahl getroffen, und zwar basierend auf 1) Resistenzquelle, 2) Größe der Population (=Anzahl der zur Verfügung stehenden homozygoten RILs) und 3) Homogenität der RILs einer Population. Wir haben uns entschieden, für die nächsten 2 Jahre von folgenden 6 Resistenzquellen Gebrauch zu machen:

Monogenische Resistenz: M822123 ist Träger von *Bt11*, PI119333 ist Träger von *Bt12*; beides sind Landsorten türkischen Ursprungs und Teil des aktuell verwendeten Differentialsortiments;

Quantitative (komplexe) Resistenz: Bei Blizzard und Bonneville handelt es sich um hoch resistente Sorten aus den USA, welche ein komplexes Resistenzmuster aufweisen und möglicherweise auch *Bt12* Träger sind;

Zusätzlich werden wir mit PI178383 (vermutlich *Bt8*, *Bt9*, *Bt10*) und PI560841 (völlig unbekannter Resistenzträger) noch zwei weitere alte Landsorten aus der Türkei in unsere Untersuchungen miteinbeziehen.

Der Umfang der auf diesen Resistenzquellen basierenden „Megapopulationen“ umfasst jeweils 120-130 Linien und könnte für individuelle Populationen im Bedarfsfall auch noch aufgestockt werden. Für einen Überblick, siehe Tabelle 8.

3. Weitere Tätigkeiten

Im Rahmen der alle 2 Jahre abgehaltenen Konferenz „The XVIII Biennial International Workshop on the Smuts and Bunts“, welche dieses Jahr im Februar in Kopenhagen stattfand, wurde auch das COBRA Stakeholder Meeting M6 von uns mitorganisiert. Auf dieser Tagung konnten wir einerseits unser Projekt im Rahmen eines Vortrags vorstellen. Andererseits hat diese Tagung auch eine Intensivierung unserer Kontakte zu anderen COBRA Partnern ermöglicht, und zu über COBRA hinausgehenden Kooperationen geführt: Mit Prof. David Hole haben einen wertvollen Partner für Zwergsteinbrand Resistenzprüfungen gewonnen, und wir nehmen ab 2015 am European Tilletia Ringtest teil, welcher rund 60 Linien an insgesamt 12 Standorten (u.a. auch Irak) über 2 Jahre auf Resistenz gegenüber Steinbrand und Zwergsteinbrand testen wird.

III. Ausblick Tätigkeiten 2015

Auch 2015 werden die durchzuführenden Resistenzprüfungen den Arbeitsschwerpunkt unseres Projektes bilden. Tabelle 1 (S. 7) gibt einen Überblick über die für 2015 geplanten Tätigkeiten. Die Aussaatvorbereitungen fürs nächste Jahr sind großteils schon erledigt worden. Neben den Resistenzprüfungen wird das Hauptaugenmerk auf der Auswahl und Genotypisierung von 2-3 Kartierungspopulationen mittels molekularer Marker liegen. Einen Überblick über die Kartierungspopulationen und deren Umfang, welche wir 2015 auf Resistenz gegenüber Zwergsteinbrand und Steinbrand in

Österreich und den USA prüfen werden, findet sich in Tabelle 8, Tabelle 9 bietet eine Beschreibung der Versuchsstandorte. Wiederum werden wir die Eltern-, Vergleichslinien und das Differentialsortiment zusätzlich an Standorten bei verschiedenen COBRA Partnern testen (Tabelle 10). Wie bereits erwähnt, nehmen wir am European Tilletia Ringtest teil, welcher rund 60 Linien an 12 unterschiedlichen Standorten, u.a. hier bei uns in Tulln auf Steinbrand Resistenz, prüft. Weiters wird im November 2014, im Rahmen der 65. Jahrestagung der Vereinigung der Pflanzzüchter und Saatgutkaufleute Österreichs in Gumpenstein das COBRA Stakeholder Meeting M30 abgehalten werden, welches von uns organisiert wird.

Tabelle 8 Übersicht Kartierungspopulationen 2015

Resistenzgruppe	Nr.	Kartierungspopulation	2015	Schönfeld	Lambach	Tulln	USA (Utah)
				Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Steinbrand	Zwergsteinbrand
Blizzard	1	Blizzard/Rainer	x	120		120	120
Bonneville	2	Bonneville/Midas					
	3	Bonneville/Rainer	x	120		120	120
7021102C	4	7021102C/Rainer					
GoldenSpike	5	GoldenSpike/Midas					
	6	GoldenSpike/Pannonikus					
	7	GoldenSpike/Rainer					
M822123	8	M822123/Rainer	x	100		100	100
PI119333	9	PI119333/Midas	x	20		20	20
	10	PI119333/Pannonikus	x	20		20	20
	11	PI119333/Rainer	x	80		80	80
	12	PI119333/Tommi					
PI178383	13	PI178383/Midas	x		80	80	80
	14	PI178383/Rainer	x		50	50	50
PI560841	15	PI560841/Midas	x		60	60	60
	16	PI560841/Rainer	x		60	60	60
PI560795	17	PI560795/Pannonikus					
	18	PI560795-1/Tommi					
	19	PI560795-2/Mulan					
	20	PI560795-2/Rainer					

Grau unterlegt sind die 2015 verwendeten Kartierungspopulationen und Resistenzquellen, für die einzelnen Standorte ist auch die Anzahl der verwendeten Linien angegeben.

Tabelle 9 Übersicht Versuchsstandorte Österreich und USA 2015

	Schönfeld	Lambach	Tulln	USA (Utah)
Resistenzprüfung 2015	Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Steinbrand	Zwergsteinbrand
Pflege Bestand	Konventionell	Biologisch	Konventionell	Konventionell
Aussaat	10.10.2014	01.10.2014	01.11.2014	06.10.2014
Saatstärke (kg/ha)	180	180	180	180
Parzellengröße (m ²)	0.50	1.00	0.50	0.25
Parzellengröße (Reihen a 1-1.5m)	2	10	2	1
Versuchsaufbau	RCB, 2 Blöcke	RCB, 2 Blöcke	RCB, 2 Blöcke	RCB, 2 Blöcke
Anzahl Kartierungspopulationen	4	2	6	6
Größe Kartierungspopulation	120-130	120-130	120-130	120-130
Anzahl Parzellen Versuch	574x2	352x2	868x2	850x2
Eltern-, Vergleichslinien, Differentialsortiment	Ja	Ja	Ja	Ja
Anzahl Parzellen Extern (inkl. COBRA Partner)	74	0	124	0
Europäischer Ringtest	Nein	Nein	Ja	Nein
Inokulation (Oktober/November)	Boden	Boden	Saatgut	Boden
Sporen Konzentration	1.5 g/m²	1.5 g/m²	0.5-1g/100g	2.0 g/m²
Abdeckung Vlies (November-April)	Ja	Ja	Nein	Nein

Konventionelle Versuche werden unter Low Input Bedingungen durchgeführt (minimale Düngung und Unkrautbekämpfung, keine Fungizidbehandlung), beim Versuchsanbau handelt es sich um ein Randomized Complete Block Design (RCB).

Tabelle 10 Übersicht Versuchsstandorte COBRA Partner 2015

	Tschechien	Deutschland	Schweden	Schweden
Resistenzprüfung 2015	Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Zwergsteinbrand	Steinbrand
Eltern-, Vergleichslinien, Differentialsortiment	Ja	Ja	Ja	Ja
Inokulation (Oktober/November)	Boden	Boden (natürlich)	Boden (natürlich)	Saatgut

ZUSAMMENFASSUNG

Das Projekt „Pflanzenzüchtung für den Biolandbau – Resistenz gegen Zwergsteinbrand“ hat zum Ziel, molekulare Marker für Zwergsteinbrand Resistenz in Winterweizen zu entwickeln. Zu diesem Zweck wurden mehrere Kartierungspopulationen, basierend auf Kreuzungen zwischen nicht angepassten, aber hoch resistenten (Land-)sorten und anfälligen, aber an hiesige Bedingungen angepasste Weizensorten, erstellt. Aufgrund des witterungsbedingt sehr niedrigen Zwergsteinbrandbefalls an beiden Versuchsstandorten in Österreich, lieferten die Kartierungspopulationen 2014 unzureichende Differenzierungen, was die zwingende Notwendigkeit von mehrjährigen Feldversuchen unterstreicht. Die Elternlinien wurden auch bei COBRA Partnern in Tschechien und in Deutschland getestet und hielten dem lokalen Befallsdruck in allen Experimenten stand. In kleinerem Umfang wurden 2014 auch Steinbrand Resistenzprüfungen durchgeführt und lieferten sehr aussagekräftige Ergebnisse für die geprüften Kartierungspopulationen. Das Befallsmuster innerhalb des Differentialsortiments – welches an mehreren Orten und in mehreren Ländern getestet wurde – zeigt, dass einzig Bt11 und Bt12 solide (monogenische) Resistenz gegen Zwergsteinbrand *und* Steinbrand vermitteln können; ansonsten bietet komplexe Resistenz, so wie wir sie in einigen hochresistenten Elternlinien vermuten können, den besten Schutz. Für 2015 wurden Kartierungspopulationen ausgewählt, welche auf 6 Resistenzquellen basieren. Diese werden wir an zwei Versuchsstandorten in Österreich und einem zusätzlichen Standort in den USA auf Zwergsteinbrand Resistenz testen. Zusätzlich wird das gesamte Sortiment an einem Standort in Österreich auf Resistenz gegen Steinbrand geprüft werden. Ausgewählte Populationen werden 2015 mittels GBS (genotyping by sequencing) genotypisiert werden. Die gemeinsame Auswertung der phänotypischen und genotypischen Daten wird in Folge die Bestimmung jener Genomabschnitte erlauben, welche für die Resistenz von Winterweizen gegen Zwergsteinbrand (und Steinbrand) verantwortlich sind.

Literatur

- Dumalasoová, V. et al., 2012. Location of genes for common bunt resistance in the European winter wheat cv. Trintella. *Euphytica*, 186(1), pp.257–264. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s10681-012-0671-7> [Accessed October 22, 2014].
- Fofana, B. et al., 2007. Mapping quantitative trait loci controlling common bunt resistance in a doubled haploid population derived from the spring wheat cross RL4452 × AC Domain. *Molecular Breeding*, 21(3), pp.317–325. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11032-007-9131-9> [Accessed November 5, 2013].
- Goates, B.J., 1996. Common bunt and dwarf bunt. In R. D. Wilcoxson & E. E. Saari, eds. *Bunt and smut diseases of wheat: concepts and methods of disease management*. pp. 12–25.
- Hoffmann, J.A. & Metzger, R.J., 1976. Current Status of virulence genes and pathogenic races of the wheat bunt fungi in then northwestern USA. *Phytopathology*, 66, pp.657–660.
- Huber, K. & Buerstmayr, H., 2006. Development of methods for bunt resistance breeding for organic farming. *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 42, pp.66–71.
- Laroche, A. et al., 2000. Development of a PCR marker for rapid identification of the Bt-10 gene for common bunt resistance in wheat. *Genome*, 43(2), pp.217–223.
- Matanguihan, J. & Murphy, K., 2011. Control of Common Bunt in Organic Wheat. *Plant Disease*, 95(2), pp.92–103.
- Metzger, R.J. & Hoffmann, J.A., 1978. New races of common bunt useful to determine resistance of wheat to dwarf bunt. *Crop Science*, 18(1), pp.49–51.
- Wang, S. et al., 2009. Markers to a common bunt resistance gene derived from “Blizzard” wheat (*Triticum aestivum* L.) and mapped to chromosome arm 1BS. *Tag Theoretical And Applied Genetics Theoretische Und Angewandte Genetik*, 119(3), pp.541–553. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19471904> [Accessed May 15, 2013].