



# **Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen**

**Federal Centre for Breeding Research on  
Cultivated Plants**



**Ahrensburg • Aschersleben • Dresden-Pillnitz**

**Groß Lüsewitz • Grünbach • Quedlinburg • Siebeldingen**

## **Jahresbericht 1995**

### **Annual Report**

Der Jahresbericht der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ)  
erscheint in eigener Redaktion im Selbstverlag.

Neuer Weg 22/23, D-06484 Quedlinburg

Fernruf: (03946) 4 70

Telefax: (03946) 4 72 55

Fotos soweit nicht anders vermerkt, Institute und Bildstelle der BAZ

Herausgegeben von der Anstaltsleitung der BAZ, März 1996

Druck: Halberstädter Druckhaus GmbH

ISSN 0948-745X

**Bundesanstalt für Züchtungsforschung  
an Kulturpflanzen**

**Federal Centre for Breeding Research  
on Cultivated Plants**

**Ahrensburg • Aschersleben • Dresden-Pillnitz**

**Groß Lüsewitz • Grünbach • Quedlinburg • Siebeldingen**

**Jahresbericht 1995**

**Annual Report**

# Inhalt

## Contents

---

|  | <u>Seite</u> |
|--|--------------|
| <b>I. Aufgaben der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen</b><br>Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants: Assignment | 1            |
| <b>II. Organisation und Personal</b><br>Organization and Personnel   | 4            |
| <b>III. Bericht des Anstaltsleiters</b><br>Director's Report   | 12           |
| <b>IV. Forschung</b><br>Research   | 21           |
| Institut für Zierpflanzenzüchtung  | 21           |
| Institut für Resistenzforschung  | 41           |
| Institut für Pathogendiagnostik  | 55           |
| Institut für Epidemiologie und Resistenz   | 66           |
| Institut für Obstzüchtung  | 89           |
| Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen  | 107          |
| Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen   | 117          |
| Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität   | 122          |
| Institut für Resistenzgenetik  | 134          |
| Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung   | 148          |
| Institut für Qualitätsanalytik   | 159          |
| Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse  | 169          |
| Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof   | 185          |
| <b>V. Wissenschaftliche Zusammenarbeit</b><br>Scientific Cooperation   | 202          |
| <b>VI. Veröffentlichungen</b><br>Publications  | 214          |
| <b>VII. Lehrtätigkeit</b><br>Academic Teaching   | 224          |
| <b>VIII. Gastwissenschaftler</b><br>Guest Scientists   | 226          |
| <b>IX. Sammlung von Schaderregern</b><br>Collection of Pathogens and Pests   | 229          |
| <b>X. Serumbank</b><br>Serum Bank  | 232          |
| <b>XI. Sondenbank</b><br>Probe Bank  | 234          |
| <b>XII. Sachwortverzeichnis</b><br>Index   | 237          |
| <b>XIII. Namensverzeichnis</b><br>List of Names  | 241          |

# I. Aufgaben der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen

## Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants: Assignment

Die Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ) ist eine nicht rechtsfähige Bundesforschungsanstalt des öffentlichen Rechts mit Forschungsaufgaben im Bereich der Pflanzenzüchtung.

Die BAZ erforscht die wissenschaftlichen Grundlagen zur Entwicklung dauerhaft gesunder und qualitativ hochwertiger Nahrungs- und Industriepflanzen. Sie unterstützt als Teil der Ressortforschung des Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten (BML) das Programm für eine qualitätsgerechte und umweltverträgliche Agrarproduktion und erarbeitet wissenschaftliche Erkenntnisse als Entscheidungshilfen für die Erfüllung der politischen und administrativen Aufgaben des BML.

Die Forschungsergebnisse tragen darüber hinaus zur Erweiterung des allgemeinen wissenschaftlichen Kenntnisstandes bei. Mit der gleichzeitigen Umsetzung von Forschungsergebnissen in praxisnahe Verfahren verbessert die BAZ die Möglichkeiten der mittelständischen Privatwirtschaft zur Züchtung von Kulturpflanzen mit erwünschter Resistenz gegen Schaderreger und hoher Produktqualität und stellt ihr zudem Basismaterial für die Entwicklung von Sorten zur Verfügung.

Die Forschungsschwerpunkte sind:

### 1. Züchtungsforschung zur Erstellung von dauerhaft gesundem Basismaterial:

- Analyse der genetischen und molekulargenetischen Ursachen der Resistenz gegen biotische Schaderreger sowie Toleranz gegen abiotische Schadfaktoren;
- epidemiologische Untersuchungen einschließlich der Virulenz- und Aggressivitätsanalyse der Pathogene;
- hohe Energieausnutzung und hohes Nährstoffaneignungsvermögen;
- Erforschung morphologischer, biochemischer und physiologischer Grundlagen für die Ausprägung von Krankheitsresistenz.

### 2. Züchtungsforschung zur Bereitstellung von Ausgangsmaterial mit verbesserter Qualität für die Nutzung als Nahrungs- und Industriepflanzen:

- Erforschung der genetischen, physiologischen und biochemischen Grundlagen der Bildung wertgebender Inhaltsstoffe;

The Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants (BAZ) is a public institution without legal capacity. BAZ research concentrates on plant breeding.

The BAZ investigates the scientific systems which control the development of high quality and stable disease resistance in food and industrial plants. As part of the research sector of the Federal Ministry of Food, Agriculture and Forestry (BML), BAZ supports the BML program on agricultural production satisfying the demands for high quality and protection of the environment, respectively. The BAZ produces the scientific basis to aid political and administrative decisions by the Ministry of Agriculture.

In addition, BAZ collects research data which contribute to an overall increase of scientific knowledge. BAZ transfers its knowledge into technologies which enable private plant breeders to develop pathogen-resistant, high quality varieties. This is mainly achieved by providing basic plant material.

BAZ research concentrates on the following areas:

### 1. Breeding research in order to provide basic plant material with stable disease resistances

- Analysis of the genetic and molecular-genetic basis of resistance and tolerance to biotic and abiotic stresses
- Epidemiological investigations including the determination of pathogen virulence and aggressiveness
- Efficient use of energy and nutrients
- Investigations of the morphological, biochemical and physiological basis of disease resistances

### 2. Breeding research to provide basic plant material with improved quality for utilization as food or industrial crops

- Investigations of the genetic, physiological and biochemical mechanisms for the synthesis of valuable compounds

- Analyse der kulturpflanzenartenspezifischen Qualitätskomponenten;
  - Beziehungen zwischen Analytik und Sensorik.
3. **Züchtungsmethodische Arbeiten zur Verbesserung der Selektion:**
- Entwicklung von Testsystemen zur qualitativen und quantitativen Erfassung von Resistenz- und Qualitätsparametern;
  - Morphologische, biochemische und molekulargenetische Analyse von Merkmalen zur Entwicklung markergestützten Selektionsverfahren.
4. **Züchtungsmethodische Arbeiten im Bereich der Nutzung und Erstellung der genetischen Variabilität:**
- Nutzung genetischer Ressourcen und Identifizierung von Resistenz- und Toleranzgenen;
  - Entwicklung neuer Züchtungsstrategien zur Einlagerung komplex vererbter Eigenschaften in Kulturpflanzen;
  - Nutzung der breiten genetischen Diversität.
- Analysis of quality components of cultivated plants
  - Relationship between chemical analysis and sensory evaluation
3. **Development of breeding methods to improve plant selection**
- Development of test systems to determine the parameters of resistance and quality quantitatively and qualitatively, respectively
  - Analysis of morphological, biochemical and molecular-genetic traits for marker-assisted selection
4. **Development of breeding methods to produce and utilize genetic variability**
- Exploitation of genetic resources and identification of resistance and tolerance genes
  - Development of new strategies to incorporate complexly inherited characteristics into cultivated plants
  - Utilization of the broad genetic diversity

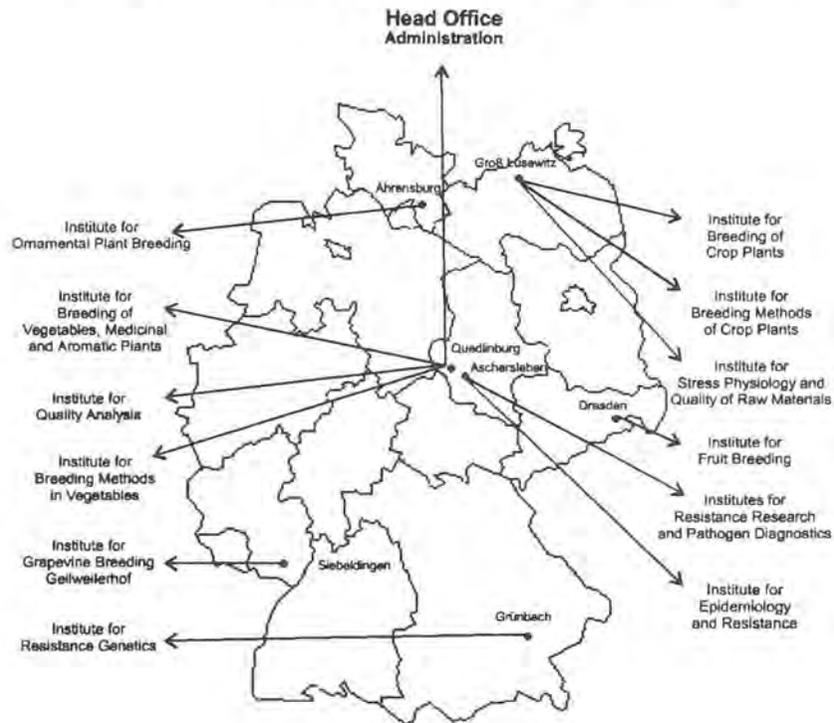
Der Sitz der Bundesanstalt ist Quedlinburg. An 7 Standorten (Ahrensburg, Aschersleben, Dresden-Pillnitz, Groß Lüsewitz, Grünbach, Quedlinburg und Siebeldingen) sind insgesamt 13 Institute eingerrichtet. Von den rund 455 planmäßig Beschäftigten sind 118 Wissenschaftler; dazu kommen in allen personellen Bereichen Mitarbeiter mit zeitlich befristeten Aufgaben.

The headquarters of the BAZ are located in Quedlinburg. Thirteen institutes have been established in 7 locations in Germany (Ahrensburg, Aschersleben, Dresden-Pillnitz, Groß Lüsewitz, Grünbach, Quedlinburg, and Siebeldingen). 118 scientists are employed among a permanent staff of approximately 445. In addition, the permanent staff is supported by temporary employees.

## Geographische Verteilung der Standorte



## Geographic Location of BAZ Institutes



## II. Organisation und Personal Organization and Personnel

---

### Anstaltsleitung

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-201  
 06484 Quedlinburg Fax: (03946) 47-202  
 Leiter (komm.): Prof. Dr. Gerhardt Alleweldt bis 28.02.1995  
 Prof. Dr. Gerhard Proeseler seit 01.03.1995  
 Pers. Referent: Wiss. Rat Dr. Klaus Peter

### Hauptverwaltung

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-340  
 06484 Quedlinburg Fax: (03946) 47-255  
 Leiter: RegDir Harro Vogt

### Institute

#### Institut für Zierpflanzenzüchtung

Anschrift: Bornkampsweg 31 Tel.: (04102) 802-10  
 22926 Ahrensburg Fax: (04102) 5 11 24  
 Leiter: Dir. u. Prof. Prof. Dr. Jürgen Grunewaldt  
 Wiss. Mitarbeiter/innen: Dr. Thomas Debener, Dr. Frank Dunemann, Edda Fahl,  
 Wiss. Oberrat Dr. Hinrik Junge, Dr. Jutta Krüger, Torsten Markussen,  
 Wiss. Oberrat Dr. Walter Preil, Dr. Annemarie Sauer, Wiss. Dir. 'in u. Prof'in. Dr. Hanna Schmidt,  
 Dr. Annegret Schum

#### Institut für Resistenzforschung

Anschrift: Theodor-Roemer-Weg 4 Tel.: (03473) 879-163  
 06449 Aschersleben Fax: (03473) 27 09  
 Leiter: Dir. u. Prof. Dr. Thomas Kühne  
 Wiss. Mitarbeiter/innen: Wiss. Rätin Dr. Gudrun Barchend, Wiss. Rat z. A. Dr. Fred Ehrig,  
 Wiss. Rätin Dr. Ute Kastirr, Wiss. Rätin Dr. Marion Nachtigall,  
 Dr. Ernst Reiss, Wiss. Rat z. A. Dr. Jörg Schubert

#### Institut für Pathogendiagnostik

Anschrift: Theodor-Roemer-Weg 4 Tel.: (03473) 879-168  
 06449 Aschersleben Fax: (03473) 27 09  
 Leiter: Prof. Dr. Klaus Naumann bis 31.10.1995  
 Wiss. Mitarbeiter/innen: Wiss. Rätin z. A. Dr. Jutta Gabler, Wiss. Rätin Dr. Ilona Krämer,  
 Wiss. Rat Dr. Hans-Ulrich Leistner, Dr. Eckhard Proll, Wiss. Rat z. A. Dr. Frank Rabenstein,  
 Dr. Angelika Senula, Dr. Rudi Zielke

### **Institut für Epidemiologie und Resistenz**

Anschrift: Theodor-Roemer-Weg 4 Tel.: (03473) 879-171  
06449 Aschersleben Fax: (03473) 27 09

Leiter: Prof. Dr. Gerhard Proeseler

Wiss. Mitarbeiter/innen: Anke Drescher, Dr. Klaus Eisbein, Dr. Klaus Geißler,  
Dr. Klaus Graichen, Dr. Erika Griesbach, Wiss. Rätin Dr. Antje Habekuß, Dr. Sonja Kicherer,  
Wiss. Rätin Dr. Doris Kopahnke, Dr. Dietrich Müller, Jürgen Prochnow,  
Wiss. Rat Dr. Klaus Richter, Dr. Edgar Schliephake, Dr. Ursula Walther

### **Institut für Obstzüchtung**

Anschrift: Pillnitzer Platz 2 Tel.: (0351) 2 61 62-214  
01326 Dresden Fax: (0351) 2 61 62-213

Leiter: Prof. Dr. Siegfried Schmidt

Wiss. Mitarbeiter/innen: Dr. Barbara Dathe, Prof. Dr. Christa Fischer, Christine Grafe,  
Wiss. Rätin Dr. Viola Hanke, Wiss. Rätin Dr. Monika Höfer, Olaf Kriehoff, Dr. Günter Sandke,  
Wiss. Rat z. A. Dr. Hartmut Schreiber, Wiss. Rat z. A. Dr. Mirko Schuster, Dr. Brigitte Wolfram

### **Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen**

Anschrift: Institutsplatz 1 Tel.: (038209) 45-300  
18190 Groß Lüsewitz Fax: (038209) 45-120

Leiter (komm.): Dr. Horst Tiemann bis 31.03.1995

Leiter: Dr. Reinhard Töpfer ab 01.04.1995 bis 30.09.1995

Leiter (komm.): Dr. Peter Wehling seit 01.10.1995

Wiss. Mitarbeiter/innen: Dr. Ulrich Darsow, Dr. Peter Dill bis 30.04.95,  
Wiss. Rat z. A. Dr. Matthias Herrmann, Steffen Roux, Wiss. Rat z. A. Eicke Rudloff,  
Wiss. Rätin Dr. Karin Sonntag, Dr. Ramona Thieme

### **Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen**

Anschrift: Institutsplatz 1 Tel.: (038209) 45-200  
18190 Groß Lüsewitz Fax: (038209) 45-120

Leiter (komm.): Dr. Bertin Effmert bis 31.03.1995

Leiter: Dr. Peter Wehling seit 01.04.1995

Wiss. Mitarbeiter/innen: Bernd Hackauf, Dr. Hans Lellbach, Anke Linz, Brigitte Ruge,  
Dr. Margret Scholz,

### **Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität**

Anschrift: Institutsplatz 1 Tel.: (038209) 45-100  
18190 Groß Lüsewitz Fax: (038209) 45-120

Leiter: Dir. u. Prof. Prof. Dr. Wilhelm Flamme

Wiss. Mitarbeiter/innen: Dr. Sabine Andrée, Wiss. Rätin z. A. Dr. Christiane Balko, Gisela Jansen,  
Dr. Hans-Ulrich Jürgens, Dr. Hanny Tantau, Wiss. Rätin Dr. Sylvia Seddig,  
Wiss. Rätin Dr. Christina Wegener

### **Institut für Resistenzgenetik Grünbach**

Anschrift: Graf-Seinsheim-Str. 23 Tel.: (08122) 97 57-10  
85461 Grünbach Fax: (08122) 97 57-97

Leiter: Prof. Dr. Gerhard Wenzel

Wiss. Mitarbeiter/innen: Akym Assani, Eva Bauer, Wiss. Rat Dr. Heinrich Brüning,  
Dir. u. Prof'in Dr. Bärbel Foroughi-Wehr, Dr. Andreas Graner, Wiss. Oberrat Dr. Volker Lind,  
Wiss. Dir. Dr. Hansjörg Walther, Siegfried Züchner

### **Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung**

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-577  
06484 Quedlinburg Fax: (03946) 47-255

Leiter: Dir. u. Prof. Dr. Manfred Neumann

Wiss. Mitarbeiter/innen: Wiss. Rätin Dr. Evelyn Klocke, Wiss. Rat Dr. Reiner Krämer, Frank Marthe,  
Dr. Friedrich Pank, Dr. Ulrich Ryschka, Dr. Paul Scholze, Wiss. Rat Dr. Günter Schumann

### **Institut für Qualitätsanalytik**

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-259  
06484 Quedlinburg Fax: (03946) 47-255

Leiter (komm.): Dr. Friedrich Pank bis 30.09.1995  
Leiter: Dr. Hartwig Schulz seit 01.10.1995

Wiss. Mitarbeiter/innen: Wiss. Rätin Dr. Edelgard Hoberg, Roselinde Höfer,  
Wiss. Rat Dr. Hans Krüger, Dr. Rolf Quilitzsch, Dr. Wolfgang Schütze, Wiss. Rat Dr. Detlef Ulrich

### **Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse**

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-213  
06484 Quedlinburg Fax: (03946) 47-255

Leiter: Dr. Klaus Düring

Wiss. Mitarbeiter/innen: Dr. Richard Ahne, Wiss. Rat Dr. Holger Budahn, Lorenz Bülow,  
Prof. Dr. Eberhard Clauß, Astrid Jahnke, Andreas Mahn, Wiss. Rat Dr. Thomas Nothnagel,  
Wiss. Rat Dr. Herbert Peterka, Petra Porsch, Wiss. Rat Dr. Otto Schrader,  
Wiss. Rätin Dr. Petra Straka, Thomas Winkler

### **Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof**

Anschrift: 76833 Siebeldingen Tel.: (06345) 41-114  
Fax: (06345) 41-177

Leiter: Prof. Dr. Dr. h. c. Gerhardt Alleweldt bis 28.02.1995  
Leiter (komm.): Wiss. Dir. Dr. Rudolf Eibach ab 01.03.1995 bis 30.09.1995  
Leiter: Dr. Reinhard Töpfer seit 01.10.1995

Wiss. Mitarbeiter/innen: Dr. Otto Bachmann, Wiss. Rätin Dr. Erika Dettweiler-Münch,  
Wiss. Oberrat Dr. Helmut Düring, Andreas Ehemann, Wiss. Dir. Dr. Rudolf Eibach,  
Wiss. Rätin Dr. Margit Harst, Wiss. Oberrat Dr. Martin Klenert,  
Dir. u. Prof. Prof. Dr. Dr. Adolf Rapp, Wiss. Oberrat Dr. Heinrich Steffan, Thomas Wehl,  
Maximilian Zurek, Dr. Eva Zyprian

## Gemeinschaftliche Einrichtungen

### Hauptbibliothek

Anschrift: Neuer Weg 22/23  
**06484 Quedlinburg** Tel.: (03946) 47-409  
 Fax: (03946) 47-255

Leiterin: Grit Lautenbach

### Arbeitsgruppe Elektronische Datenverarbeitung

Anschrift: Neuer Weg 22/23  
**06484 Quedlinburg** Tel.: (03946) 47-261  
 Fax: (03946) 47-255

Leiter: Wiss. Rat z. A. Steffen Kecke

### Versuchsfelder

#### Ahrensburg

Anschrift: Bornkampsweg 31  
**22926 Ahrensburg**  
 Tel.: (04102) 802-55  
 Fax: (04102) 5 11 24

Leiter:

#### Grünbach

Anschrift: Graf-Seinsheim-Str. 23  
**85461 Grünbach**  
 Tel.: (08122) 9757-28  
 Fax: (08122) 9757-97

Leiter:

Eberhard Dietzmann

#### Aschersleben

Anschrift: Theodor-Roemer-Weg 4  
**06449 Aschersleben**  
 Tel.: (03473) 879-145  
 Fax: (03473) 27 09

Leiter:

Michael Kleemann

#### Quedlinburg

Anschrift: Neuer Weg 22/23  
**06484 Quedlinburg**  
 Tel.: (03946) 47-540  
 Fax: (03946) 47-255

Leiter:

Steffen Schwarz

#### Dresden-Pillnitz

Anschrift: Pillnitzer Platz 2  
**01326 Dresden**  
 Tel.: (0351) 2 61 62-234  
 Fax: (0351) 2 61 62-213

Leiter:

Frank Urbitsch

#### Siebeldingen

Anschrift: **76833 Siebeldingen**  
 Tel.: (06345) 41-172  
 Fax: (06345) 41-177

Leiter:

Wilfried v. Heßberg

#### Groß Lüsewitz

Anschrift: Institutsplatz 1  
**18190 Groß Lüsewitz**  
 Tel.: (038209) 45-400  
 Fax: (038209) 45-120

Leiter:

Günter Wedler

## Personalvertretungen der BAZ

### Hauptpersonalrat beim BML

Mitglied:  
Rosalinde Höfer  
Quedlinburg

Tel.: (03946) 47-239

### Gesamtpersonalrat der BAZ

Vorsitzender:  
Dr. Wolfgang Schütze  
Quedlinburg

Tel.: (03946) 47-281

### Örtliche Personalräte der BAZ

#### Ahrensburg

Vorsitzender:  
Helmut Seehaus

Tel.: (04102) 802-77

#### Grünbach

Vorsitzende:  
Maria Graf

Tel.: (08122) 9757-10

#### Aschersleben

Vorsitzender:  
Wiss. Rat Dr. H.-Ulrich Leistner

Tel.: (03473) 879-160

#### Quedlinburg

Vorsitzende:  
Almut Garve

Tel.: (03946) 47-246

#### Dresden-Pillnitz

Vorsitzende:  
Reinhild Hofmann

Tel.: (0351) 2 61 62-221

#### Siebeldingen

Vorsitzende:  
Petra Stritzinger

Tel.: (06345) 41-151

#### Groß Lüsewitz

Vorsitzender:  
Wiss. Rat z.A. Eicke Rudloff

Tel.: (038209) 45-314

## Mitglieder des Anstaltskollegiums der BAZ\*

### Mitglieder ex officio:

|                                       |  |
|---------------------------------------|--|
| Dr. K. Düring                         | Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse                          |
| Dir. u. Prof. Prof. Dr. W. Flamme     | Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität                 |
| Dir. u. Prof. Prof. Dr. J. Grunewaldt | Institut für Zierpflanzenzüchtung                                  |
| Dir. u. Prof. Dr. T. Kühne            | Institut für Resistenzforschung                                    |
| Dir. u. Prof. Dr. T. Kühne            | Institut für Pathogendiagnostik                                    |
| Dir. u. Prof. Dr. M. Neumann          | Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung             |
| Prof. Dr. G. Proeseler                | Institut für Epidemiologie und Resistenz                           |
| Prof. Dr. S. Schmidt                  | Institut für Obstzüchtung  |
| Dr. H. Schulz                         | Institut für Qualitätsanalytik                                     |
| Dr. R. Töpfer                         | Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof                           |
| Dr. P. Wehling                        | Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen          |
| Dr. P. Wehling                        | Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen |
| Prof. Dr. G. Wenzel                   | Institut für Resistenzgenetik                                      |

### Zugewählte Mitglieder:

|                                |  |
|--------------------------------|--|
| Dr. H. Lellbach                | Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen |
| Frau Dr. J. Krüger             | Institut für Zierpflanzenzüchtung                                  |
| Prof. Dr. A. Rapp              | Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof                           |
| Frau Dr. A. Schum              | Institut für Zierpflanzenzüchtung                                  |
| Wiss. Rätin Frau Dr. P. Straka | Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse                          |
| Frau Dr. U. Walther            | Institut für Epidemiologie und Resistenz                           |

### Ständig beratendes Mitglied:

|                |                 |
|----------------|-----------------|
| RegDir H. Vogt | Hauptverwaltung |
|----------------|-----------------|

### Ständiger Teilnehmer:

|                        |                 |
|------------------------|-----------------|
| Wiss. Rat Dr. K. Peter | Anstaltsleitung |
|------------------------|-----------------|

\* Stand 31.12.1995



## Personalübersicht 1995\*

| Organisationseinheit / Institut               | Wissenschaftler |            |             | technische Angestellte |             |            | Arbeiter<br>(ohne Saisonkräfte) | Verwaltungs-<br>Angestellte | Gesamt       |
|---|-----------------|------------|-------------|------------------------|-------------|------------|---------------------------------|-----------------------------|--------------|
|   | a)              | b)         | c)          | a)                     | b)          | c)         |                                 |                             |              |
| <b>Zentrale Quedlinburg</b>                   |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Anstaltsleitung und Hauptverwaltung           | 2.0             |            |             | 1.0                    |             |            | 7.0                             | 21.5                        | 31.5         |
| übergreifende Gemeinschaftliche Einrichtungen | 1.0             |            |             | 3.0                    |             |            |                                 | 0.5                         | 4.5          |
| <b>Standort Ahrensburg</b>                    |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Verwaltung                                    |                 |            |             |                        |             |            | 1.5                             | 3.0                         | 4.5          |
| Institut für Zierpflanzenzüchtung             | 9.0             |            | 0.5         | 16.5                   | 1.0         |            | 15.0                            | 1.0                         | 43.0         |
| <b>Standort Aschersleben</b>                  |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Verwaltung u. Gemeinschaftliche Einrichtungen |                 |            |             | 3.0                    |             |            | 16.0                            | 2.0                         | 21.0         |
| Institut für Resistenzforschung               | 7.0             | 1.0        |             | 9.0                    |             |            |                                 | 1.0                         | 18.0         |
| Institut für Pathogendiagnostik               | 6.0             |            |             | 9.0                    |             |            | 1.0                             | 1.0                         | 17.0         |
| Institut für Epidemiologie und Resistenz      | 6.5             |            | 5.5         | 10.0                   | 2.0         |            |                                 | 1.0                         | 25.0         |
| <b>Standort Dresden</b>                       |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Verwaltung u. Gemeinschaftliche Einrichtungen |                 |            |             | 5.0                    |             |            | 15.0                            | 2.0                         | 22.0         |
| Institut für Obstzüchtung                     | 10.0            |            | 0.5         | 13.0                   |             | 1.5        | 5.0                             | 1.0                         | 31.0         |
| <b>Standort Groß Lüsewitz</b>                 |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Verwaltung u. Gemeinschaftliche Einrichtungen |                 |            |             | 6.0                    |             |            | 13.0                            | 2.0                         | 21.0         |
| Institut f. Züchtung landw. Kulturpflanzen    | 7.0             |            |             | 9.0                    | 1.0         |            | 3.0                             | 1.0                         | 21.0         |
| Inst. f. Züchtungsmeth. landw. Kulturpflanzen | 5.5             | 0.5        |             | 8.0                    |             |            | 1.0                             | 1.0                         | 16.0         |
| Institut f. Streßphysiol. u. Rohstoffqualität | 6.0             | 0.5        |             | 8.0                    | 3.0         |            |                                 | 1.0                         | 18.5         |
| <b>Standort Grünbach</b>                      |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Verwaltung u. Gemeinschaftliche Einrichtungen |                 |            |             | 2.0                    |             |            | 1.0                             | 1.0                         | 4.0          |
| Institut für Resistenzgenetik                 | 6.0             | 1.0        | 5.0         | 4.5                    | 1.0         |            | 7.0                             |                             | 24.5         |
| <b>Standort Quedlinburg</b>                   |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Gemeinschaftliche Einrichtungen               |                 |            |             | 3.0                    |             |            | 10.0                            |                             | 13.0         |
| Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzen    | 8.0             |            |             | 14.0                   | 0.5         |            | 1.0                             | 1.0                         | 24.5         |
| Institut für Qualitätsanalytik                | 7.0             |            |             | 10.0                   |             |            |                                 | 1.0                         | 18.0         |
| Institut f. Züchtungsmethodik bei Gemüse      | 8.0             | 2.0        | 1.5         | 10.0                   | 3.5         |            |                                 | 1.0                         | 26.0         |
| <b>Standort Siebeldingen</b>                  |                 |            |             |                        |             |            |                                 |                             |              |
| Verwaltung                                    |                 |            |             |                        |             |            | 4.5                             |                             | 4.5          |
| Inst. f. Rebenzüchtung Geilweilerhof          | 10.0            | 1.0        |             | 34.0                   |             |            | 33.0                            | 1.0                         | 79.0         |
| <b>Gesamt BAZ</b>                             | <b>99.0</b>     | <b>6.0</b> | <b>13.0</b> | <b>178.0</b>           | <b>12.0</b> | <b>1.5</b> | <b>134.0</b>                    | <b>44.0</b>                 | <b>487.5</b> |

- a) planmäßiges Personal
- b) Zuwendungen Dritter
- c) DFG und Gäste

Stand 31.12.1995

### III. Bericht des Anstaltsleiters Director's Report

Die Bundesanstalt für Züchtungsforschung ist im Jahre 1995 ihrer bedeutenden interdisziplinären Aufgabe in der Agrarforschung gerecht geworden.

In mehr als 200 Forschungsprojekten, einschließlich einer wachsenden Anzahl von Drittmittelprojekten, sind Zielstellungen formuliert, die einer optimalen und effizienten Bearbeitung der im Teil I beschriebenen Aufgabenstellung entsprechen.

Die nachfolgende Zusammenfassung einiger Forschungsergebnisse gestattet einen Überblick über das Zusammenwirken der einzelnen Institute der BAZ, die Kooperation mit fachlich benachbarten Bundesforschungsanstalten sowie mit Universitäten im In- und Ausland und nicht zuletzt mit den in der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung organisierten Betrieben.

Auch im Jahr 1995 konnten bei der Bearbeitung dieser komplexen Aufgaben an den Instituten der BAZ überzeugende Erfolge erzielt werden.

#### 1. Die Verbesserung der Resistenz von Kulturpflanzen gegen Schaderreger

Klassische Selektion wird weiterhin ein wichtiger Weg für den Aufbau von resistenten Basispopulationen bleiben, auch bei den landwirtschaftlichen Kulturen, wie dem Getreide. Hierzu wurde beim Weizen eine Technik entwickelt, die nach künstlicher Infektion die gleichzeitige Selektion auf die vier Weizenpathogene *Septoria tritici*, *S. nodorum*, *Fusarium culmorum* und *F. graminearum* erlaubt und erstmals 1995 im Feld erprobt.

Bei Kohl konnten auf dem biotechnologischen Weg der Zellfusion mit Protoplasten der Arten *Brassica nigra* bzw. *B. juncea* Resistenzen gegen *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* und *Phoma lingam* in die Kulturform *Brassica oleracea* var. *botrytis* übertragen und resistente Hybridpflanzen regeneriert werden. Die gleiche Technik diente bei der Kartoffel dazu, die Interaktion zwischen Kern und Cytoplasma zu erforschen, die in somatischen Hybriden anders als in sexuellen Hybriden verläuft. Es steht fest, daß dem Cytoplasma eine wohl bisher unterschätzte Rolle bei der Merkmalsausprägung zukommt.

Im biotechnologischen Bereich, der Gentechnik, konnten die Voraussetzungen für die Freilandprüfung der in den Vorjahren erstellten transgenen Kartoffeln mit Resistenz gegen *Erwinia carotovora* soweit vorangetrieben werden, daß 1996 an zwei Standorten mit der Freilandprüfung begonnen wird.

Für die technische Ausweitung der Übertragung von Resistenzgenen sind deren Identifizierung und Klonierung notwendig. Ein wichtiger Schritt dazu ist die Kartierung der Gene im Genom. Bei Roggen gelang dies für ein monogen vererbtes dominantes Braunrostresistenzgen.

In 1995, the Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants was again successful in complying with the high standards of a broad interdisciplinary approach to agricultural research.

More than 200 research projects including a growing share of externally financed projects demonstrate an optimal and efficient realization of the BAZ research goals as formulated in Part I.

The following summary of selected research achievements illustrates the close interaction of the individual BAZ institutes, the close cooperation with related federal research centres as well as universities in Germany and abroad. Last but not least it demonstrates the close collaboration with individual companies of the private sector which are organized in the GFP, an association for the promotion of German private plant breeding.

1995 was another year in which the institutes of the BAZ took important steps towards a successful realization of their research assignments.

#### 1. Cultivated plants with an improved pathogen resistance

Classical selection will remain an important tool to assemble resistant base populations for agricultural crops such as cereal. A technique was developed which allows for simultaneous selection for resistance to four wheat pathogens, *Septoria tritici*, *S. nodorum*, *Fusarium culmorum* and *F. graminearum*, after artificial infection. The method was tested for the first time under field conditions in 1995.

Hybrids of *Brassica oleracea* with resistances to *Alternarias brassicicola*, *A. brassicae* and *Phoma lingam* were obtained after cell fusion with protoplasts of *Brassica nigra* and *B. juncea*, respectively. The same technique was applied to potatoes to investigate the interaction between nucleus and cytoplasm, which is different in somatic hybrids and sexual hybrids. It is generally accepted that the importance of the cytoplasm for the development of plant characters has so far been underestimated.

In the field of genetechology, the BAZ prepared a solid basis for field testing of transgenic potato plants resistant to *Erwinia carotovora*. The field evaluation of transgenic potato plants produced last year is planned in two locations in 1996.

The identification and cloning of resistance genes are a prerequisite to their successful transmission via modern technologies. An important step on the way is gene mapping with the genome. A dominant gene for resistance to brown rust was identified and mapped in rye.

Bei Gerste wurden die Gene Rh2 für eine *Rhynchosporium*-Resistenz, Pt für *Pyrenophora teres* sowie mehrere Gene für die Gelbmosaikvirus-Resistenz molekular kartiert. Auch auf der Pathogenseite laufen entsprechende molekulare Analysearbeiten; so konnte beim Kronenrost von *Lolium sp.* in 20 Einzelpustellinien genetische Diversität mit RAPD-Primern festgestellt werden.

Eine wichtige Voraussetzung für alle genetischen Arbeiten zur Resistenz ist die Verfügbarkeit empfindlicher Testsysteme, mit deren Hilfe auch kleinste Pathogenmengen sicher nachgewiesen werden können. Neben der Ausarbeitung eines ELISA-Verfahrens für den Nachweis von *Rhynchosporium*-Arten gelang erstmals der Einsatz der In-situ-PCR-Hybridisierung zum Nachweis des beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in anfälligen Zuckerrüben. Die Methode kann zukünftig verstärkt zur Aufklärung von Mechanismen der Übertragung von Pflanzenviren durch pilzliche Vektoren eingesetzt werden.

Neben Arbeiten, durch die versucht wird, mittels verschiedener Systeme Resistenzgene zu übertragen, kann es auch gelingen, die natürlichen Abwehrmechanismen der Pflanze zu aktivieren. Im System Rebe/*Botrytis cinerea* konnte aus Pilzkulturen ein phytotoxischer Stoff isoliert werden, der jetzt zur In-vitro Selektion eingesetzt wird.

Mit den dargestellten vielfältigen Techniken, die von der klassischen Züchtung bis hin zum Gentransfer reichen, werden in der BAZ alle methodischen Wege beschritten, um den Züchter, den Landwirt und letztlich den Verbraucher mit resistenten Kulturpflanzen zu versorgen. Insgesamt laufen derartige Forschungsarbeiten bei knapp 50 Kulturpflanzenarten und mehr als 40 wichtigen biotischen Schaderregern.

In den vergangenen Jahren wurden aus Ahrensburg drei Apfelsorten zum Sortenschutz angemeldet: 'Ahrista' (TSR15T3 x 'Elstar'), 'Gerlinde' ('Elstar' x TSR15T3) und 'Ahra' ('Prima' x Klon 40). Sie sind resistent gegen Apfelschorf und mäßig anfällig für Mehltau. 'Ahra' hat sich nach mehrfacher Inokulation mit *Nectria galligena* als krebsfest erwiesen. Der Ertrag ist bei allen drei Sorten mittel bis hoch. Der Geschmack wird als gut bis sehr gut bewertet.

Aus den Arbeiten des Institutes für Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz gingen die Sorten 'Pia', 'Pirella' ('Pirol'), 'Piflora' und 'Pingo' hervor. Der Sortenschutz wurde 1995 erteilt und beruht auf hoher Fruchtqualität, breit gestreuter Reifezeit, hoher Toleranz gegen Mehltau und bei der Sorte 'Pirella' zusätzlich gegen Feuerbrand.

Die Rebsorten 'Sirius' und 'Regent', die beide Pilzresistenz besitzen, wurden 1995 in die Sortenliste aufgenommen.

Die Biotechnologie mit dem Teilgebiet Gentechnik bestimmt zunehmend den Prozeß der Entwicklung neuer, leistungsfähiger Kulturpflanzenarten. Sie ist bereits jetzt mit den etablierten In-vitro-Kulturtechniken ein unverzichtbarer Bestandteil der Sortenzüchtung. Besondere Anstrengungen sind nötig, um alle Voraussetzungen zur Integration auch der Gentechnik in die praktische Pflanzenzüchtung zu ermöglichen.

In barley, the genes Ph2 and Pt giving resistance to *Rhynchosporium* and *Pyrenophora teres*, respectively, as well as several genes responsible for resistance to barley yellow mosaic virus (BaYMV) have been mapped.

Similar studies analysing the pathogens are underway. For crown rust of *Lolium sp.*, RAPD-primers revealed a genetic diversity in 20 single pustule isolates.

An important prerequisite for all genetic resistance research is the availability of sensitive test systems capable of detecting minimal amounts of pathogens. In addition to the development of an ELISA test for the development of *Rhynchosporium*, the successful application of an in-situ PCR hybridization to identify the beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) in susceptible sugar beets was demonstrated for the first time. This method is expected to contribute to a better understanding of the mechanisms of virus transmission by fungal vectors.

In addition to research into different systems of resistance gene transmission, attempts are being made to activate the natural defence mechanisms of the respective host plant. In the host-pathogen-system grapevine/*Botrytis cinerea*, a phytotoxic substance was isolated from fungal cultures which is now being used for in vitro selection.

As demonstrated by a wide array of techniques ranging from classical breeding to genetransfer, the BAZ makes a full use of these methods in order to provide the breeder, the plant grower and finally the consumer with increasingly resistant cultivated plants. At present, the BAZ investigates almost 50 crop species and more than 40 important biotic pathogens.

In the last years, the Institute for Ornamental Plant Breeding at Ahrensburg submitted three apple varieties for registration: 'Ahrista' (TSR15T3 x 'Elstar'), 'Gerlinde' (Elstar x TSR15T3) and 'Ahra' ('Prima' x Klon 40). The varieties are resistant to apple scab and moderately susceptible to mildew. Several inoculations with *Nectria galligena* showed that 'Ahra' is canker-proof. All three varieties produce medium to high yields, flavour ranges from good to very good.

The Institute for Fruit Breeding at Dresden-Pillnitz released the varieties 'Pia', 'Pirella' ('Pirol'), 'Piflora' and 'Pingo'. The varieties were registered in 1995. They are characterized by high fruit quality, extended time of maturity, high tolerance to mildew; 'Pirella' is also resistant to fire blight.

The grapevine varieties 'Sirius' and 'Regent', which are both resistant to fungi, were added to the list of recommended varieties in 1995.

Biotechnology, especially genetchnology, increasingly influences the development of new, high yielding varieties. Combined with established in vitro techniques it is already an integral part of variety development. Anyhow, it will need further efforts to enable an equal integration of genetchnology into practical breeding.

Die Herstellung genetischer Variabilität erfolgt üblicherweise durch Kombination von Gameten, also Kreuzung selektierter Eltern. Diese Methode wird erfolgreich in BAZ-Instituten zur Überwindung von Kreuzungsbarrieren bei *Solanum*-, *Brassica*- und *Allium*-Arten eingesetzt. Sie führte nach Kreuzung der Küchenzwiebel mit Porree zu einer Vielzahl von Hybridlinien. Deren Hybridcharakter wurde mit molekularen und cytologischen Methoden nachgewiesen.

Sind durch die Kombination von Gameten keine Embryonen zu erzielen, so bietet sich die Fusion von vorübergehend zellwandlosen, somatischen Zellen, den Protoplasten, an. Forschungsarbeiten zur Erstellung von Regenerationsprotokollen werden bei Apfel und Kirsche, Rebe, Rose sowie bei Usambaraveilchen und Porree durchgeführt.

Umfangreiche Genotypenprüfungen finden dazu beim Apfel und verschiedenen Zierpflanzen statt. Protoplastenfusionsvorhaben werden durchgeführt zur Kombination von Lagerfähigkeit bei tiefen Temperaturen, Resistenz und Anbauwürdigkeit bei der Kartoffel und zur Gewinnung genetischer Variabilität für Blütenfarbe bei Alpenveilchen und Usambaraveilchen.

Protoplastenfusionen erfolgen nicht nur als symmetrische Kombination intakter, ganzer Protoplasten, sondern auch als asymmetrische Fusion von jeweils Teilen von Protoplasten. Institute der BAZ nutzen diese Möglichkeit z. B. zur Übertragung der männlichen Sterilität aus der Zwiebel in Porree und aus Rettich in Kohl. Als Ergebnis steht Basismaterial für die Erstellung von Eltern für wirtschaftlich besonders bedeutende Hybridsorten, z. B. von Blumenkohl, Weiß-, Rot- und Wirsingkohl zur Verfügung. Dieses Material wird in Kooperation mit Züchtungsbetrieben auf Stabilität der männlichen Sterilität in Kreuzungs- und Zuchtprogrammen überprüft.

## 2. Die Erhöhung der Toleranz von Kulturpflanzen gegen Stressfaktoren

Während es in den Entwicklungsländern vor allem darum geht, überhaupt - und möglichst hohe - Erträge zu realisieren, stehen in den entwickelten Industrieländern Ertrags- und Qualitätsstabilität im Vordergrund.

Für den Nachweis genetischer Variabilität als Grundlage einer Selektion auf Streßtoleranz ist die umfassende weitreichende Charakterisierung von Arbeits- und Testsortimenten (Kartoffel, Ackerbohne - Trockenstreß; Wintergerste - Froststreß) eine wesentliche Voraussetzung.

Dabei lag der Schwerpunkt auf Merkmalen, die als indirekte Selektionskriterien oder „Streßmarker“ genutzt werden können. In diesem Zusammenhang wird vor allem die Akkumulation sogenannter kompatibler Substanzen - unterteilt in Alkylamine und Polyhydroxyverbindungen - unter Streßeinfluß diskutiert. Die Eignung von Prolin und löslichen Zuckern als „Streßmarker“ konnte an Hand von Gefäß- und Feldversuchen verifiziert werden.

Genetic variability is usually obtained by the combination of gametes via the crossing of selected parents. The BAZ institutes employ this method successfully in order to overcome crossing barriers in *Solanum*, *Brassica* and *Allium* species. The crossing of onion with leek produced a multitude of hybrid lines. Hybrid character was verified by molecular and cytological methods.

The fusion of temporarily cell wall free, somatic cells, i.e. protoplasts, is advisable in cases where the combination of gametes does not yield viable embryos. Protocols for plant regeneration were established for apple, cherry, grapevine, roses, African violet and leek. In support of this research, extensive genotype tests are conducted in apple and distinct ornamental plants. Protoplast fusion is employed to combine such traits as 'storing characteristics under low temperatures', 'resistance' and 'agronomical value' in potato. For cyclamen and African violets, it is used to improve the genetic variability responsible for flower colouration.

Not only intact, complete protoplasts are symmetrically combined. It is also possible to asymmetrically fuse parts of protoplasts. The BAZ uses this method for the transmission of male sterility from onion into leek and from radish into cabbage, respectively. The procedure generates basic material for the development of parents of economically important hybrid varieties, such as cauliflower and white, red or Savoy cabbages. The stability of the male sterility is tested in cooperation with private breeders through crossing and breeding programs.

## 2. Increase in stress tolerance of cultivated plants

As opposed to developing countries where the major problem is the production of a crop with the highest possible yield, highly industrialized countries focus on yield stability and quality.

A comprehensive characterization of plant collections (potato, Faba bean- drought resistance; winter barley - frost hardiness) is a prerequisite for the determination of genetic variability, which is the basis of selection for stress tolerance.

Emphasis is placed on characters which may serve as indirect criteria for selection or 'stress markers'. In this context, the accumulation of so-called compatible substances under stress, i.e. alkylamines and polyhydroxyl compounds, is discussed in detail. The suitability of proline and soluble sugars as 'stress markers' was verified in field and glasshouse experiments.

Auf Grund der Abhängigkeit der Prolin- und Zuckerkumulation von Umweltfaktoren erwies es sich als notwendig, diese unter reproduzierbaren Bedingungen im Labortest zu erfassen. Diese Abhängigkeiten schlugen sich auch im Rein-/Rohproteinverhältnis als komplexes Merkmal zur Beurteilung der Stresstoleranz wider. Weiterhin wurden Messungen der Chlorophyllfluoreszenz zur Charakterisierung komplexer Veränderungen eingesetzt, die vor allem bei der Kartoffel eine Differenzierung hinsichtlich ihrer Trockentoleranz von Idiotypen erkennen lassen.

Bei der Etablierung eines Systems zur In-vitro-Selektion bei der Kartoffel konnte nachgewiesen werden, daß sich idiotypische Unterschiede in der Trockentoleranz in der In-vitro-Phase widerspiegeln. Aufbauend darauf soll ein breiter Selektionsansatz zur Erzeugung trockenoleranter Linien führen.

Im Rahmen eines gemeinsamen Projektes mit der Universität Hamburg zur In-vitro-Selektion bei Wintergerste zeigten Nachkommenschaften von Pflanzen aus hydroxyprolin-resistenten Kalli, daß die erhöhte Frosttoleranz genetisch fixiert ist.

Untersuchungen zur Wasserbilanz deutscher und spanischer Rebsorten im Freiland ergaben, daß im Verlaufe des Sommers die Blätter spanischer Sorten trotz höherer Transpirationsraten höhere Turgorwerte bei geringerer Wasserspeicherung aufwiesen als die Blätter deutscher Sorten. Die höheren Turgorwerte, die als ein wichtiges Kriterium der Trockenresistenz gewertet werden können, sind nur zum Teil über ein stärker negatives osmotisches Potential, i.e. über osmotische Anpassung, erklärbar. Es kann somit davon ausgegangen werden, daß auch eine höhere Wasseraufnahmerate an der Aufrechterhaltung des Turgors beteiligt ist. 'Garnacha tinta' zeichnete sich gegenüber 'Riesling' durch eine höhere Photosyntheseleistung, eine bessere Wassernutzungseffizienz und eine geringere stomatare Sensibilität gegenüber abnehmender Luftfeuchte aus, entspricht also mehr dem Ökotyp des „water spenders“.

Mit Hilfe einer weiterentwickelten Infiltrationstechnik konnte unter den trockenheißen Bedingungen Australiens der Nachweis geführt werden, daß sich auch unter wechselnden Witterungsbedingungen die Stomata eines Blattes in räumlicher und zeitlicher Hinsicht ungleichmäßig öffnen und schließen. Vergleichende Untersuchungen an 4 Ackerbohnsorten ließen sortentypische Unterschiede hinsichtlich der Photosyntheserate bei normaler und sättigender CO<sub>2</sub>-Versorgung erkennen. Die hohe Photosyntheseleistung der Sorte 'ILB 2282' beruht auf einer intensiveren Nutzung des blattinternen CO<sub>2</sub> und erklärt die höhere Wassernutzungseffizienz dieser Sorte. Für Untersuchungen der Frosthärte wurden Stecklinge der Rebe an drei verschiedenen Terminen im Januar entweder direkt gefroren (9 h, -20 °C) oder nach Abhärtung gefroren (24 h, -11 °C / 20 h, -20 °C). Die Überlebensrate der Knospen wurde mit dem Chlorophyllfluoreszenzverfahren ( $F_v/F_m$ ) bestimmt. Dieses Verfahren läßt eine gute Klassifizierung der Sorten und Stämme im Merkmal „Frosthärte“ und der Erhöhung der Überlebensrate nach Abhärtung zu.

The accumulation of proline and sugar is subject to changes in the environment, their accumulation is thus analysed under reproducible laboratory conditions. These interdependencies are represented in the relation of raw and pure proteins, which is a complex character to evaluate stress tolerance. Measurements of the chlorophyll fluorescence were employed to characterize complex changes which, especially in potato idiotypes, indicate a differentiation regarding the drought tolerance.

While establishing an in vitro selection system for potatoes it was detected that different stress tolerances of idiotypes are also reflected in the in vitro phase. It is expected that these results will lead to a broad selection procedure for the production of drought tolerant lines.

In cooperation with the University of Hamburg it was demonstrated in an in vitro selection of winter barley, that progenies regenerated from hydroxyprolin-resistant calli exhibited genetically stable frost tolerance.

Water balance experiments comparing German and Spanish grapevine varieties in the field during the summer season showed that in spite of higher transpiration rates the leaves of the Spanish varieties had maintained higher turgor values at a lower water holding capacity than the leaves of the German varieties. The higher turgor values which are considered to be an important parameter of drought resistance can only partly be explained by a higher negative osmotic potential or through osmotic adjustment. It can be assumed that higher rates of water uptake are associated with the maintenance of turgor. Compared with the variety 'Riesling', 'Garnacha tinta' exhibits a higher rate of photosynthesis, a higher water use efficiency and a lower stomate sensitivity to decreasing humidity, i.e. 'Garnacha tinta' is more the ecotype of a „water spender“.

With the help of an advanced infiltration technique it was demonstrated that the stomates of a leaf open and close irregularly as environmental conditions change in an arid, hot Australian climate.

Comparative analyses with 4 varieties of *Vicia faba* showed variety-typical differences concerning rates of photosynthesis at normal and saturated CO<sub>2</sub> levels. The high rate of photosynthesis of the variety 'ILB 2282' is based on the intensive use of the leaf-internal CO<sub>2</sub> explaining the higher water use efficiency.

Frost hardiness of grape varieties was investigated by storing cuttings at subzero temperatures during three different days in January: either by direct freezing (9 h, -20 °C) or freezing after previous hardening (24 h, -11 °C / 20 h, -20 °C). The survival rate of the buds was determined by chlorophyll fluorescence ( $F_v/F_m$ ). This method allows a good classification of varieties and strains for frost hardiness and increased the survival rate after previous hardening.

### 3. Züchtungsmethodische Forschungsarbeiten

Nicht in allen Fällen ist die Erweiterung der genetischen Variabilität das Ziel. Zur Abkürzung eines Zuchtganges, zur Angleichung des Ploidieniveaus von Kreuzungseltern oder zur Selektion von geeigneten Genotypen kann die Einengung der genetischen Variabilität durch Halbierung der Chromosomenanzahl erwünscht sein. Gewonnen werden diese Haploiden aus der Bestäubung mit artfremdem oder durch mittels Bestrahlung inaktiviertem Pollen bei Kartoffel, Gerste und Apfel. Eine Kultur der sich entwickelnden Embryonen *in vitro* ist bei einigen der genannten Kombinationen erforderlich, um Haploide zu erzeugen. In einem anderen Verfahren werden Haploide durch die *In-vitro*-Kultur von unreifem Pollen innerhalb der Anthere oder daraus isoliert bei Apfel, Kohl- und Zwiebel gewonnen. Die *In-vitro*-Kultur von Samenanlagen mit Eizellen führt beim Apfel, bei Porree, verschiedenen Kohllarten und der Kirsche zu den erwünschten homozygoteren Formen.

Zur vegetativen Vermehrung von Kreuzungseltern werden die Sproßregeneration an Blatt- oder Kotyledonenexplantaten von Apfel, Möhre, Kirsche, Rebe, Alpenveilchen und verschiedenen, potentiellen neuen Zierpflanzen und die somatische Embryogenese genutzt. Erfolgreiche Versuche zur Induktion der somatischen Embryogenese werden mit Alpenveilchen, Clematis, Kümmel, Porree und dem Weihnachtsstern unternommen. Wie bei anderen *In-vitro*-Reaktionen, ist auch die Fähigkeit zur Ausbildung somatischer Embryonen genetisch determiniert und daher selektierbar.

Besonders effizient ist ein System, das die Induktion der somatischen Embryogenese in steuerbaren Flüssigkultursystemen, den Bioreaktoren, zuläßt. Als Parameter für die Induktionssteuerung wurden Glykoproteide, 1-Naphthyl-essigsäure, 4-Chlorphenoxyessigsäure, Isopentyladenin und Abscisinsäure sowie ernährungsphysiologisch wichtige Anionen und Kationen ermittelt.

Die ständig steigenden Anforderungen an die Leistungsfähigkeit der Kulturpflanzen führt dazu, daß die notwendige Kombination von immer mehr Eigenschaften in einer Pflanze zu einem Selektionsproblem wird. Aus einer Vielzahl unerwünschter Individuen einer Nachkommenschaft müssen die wenigen mit der erwünschten Merkmalskombination ausgelesen werden.

Für die Züchtung von Roggen wird die gametophytische Zwei-Faktor-Selbstinkompatibilität (SI) zur Nutzung eines hohen Grades an Heterosis diskutiert.

Für eine effiziente Selektion der Hybrideltern werden eng mit den SI-Genen gekoppelte Markergene oder die SI-Gene selbst gesucht. Im Rahmen der molekularen Charakterisierung des Inkompatibilitätssystems beim Roggen ist eine repräsentative Lambda-cDNA-Bibliothek aus Pollen der selbstinkompatiblen Sorte 'Halo' erstellt worden.

Gelungen ist auch die Übertragung des Hüllproteinogenes des Ryegrass mosaic potyvirus (RgMV) mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens* und spezifisch erstellten Konstrukten in *Lolium sp.* Die Resistenzprüfung der transgenen Pflanzen wird zur Zeit vorbereitet.

### 3. Research into breeding methods

Research is not always aimed at expanding genetic variability. It is sometimes advisable to restrict the genetic variability by halving the number of chromosomes in order to shorten the breeding process, to adjust different ploidy levels of the parental components or to select adequate genotypes. In potato, barley and apple, the haploids are generated from pollination with alien pollen or pollen being inactivated by irradiation. Some of the combinations require the culture of the developing embryos *in vitro* to produce haploids. A different technique, used for apple, cabbage and onion species in particular, produces haploids via *in vitro* culture of immature pollen or anthers. For apple, leek, diverse cabbages and cherry, the *in vitro* culture of the ovule with ova leads to the desired homozygous forms.

The vegetative propagation of crossing parents makes use of somatic embryogenesis as well as of the shoot regeneration in the leaf and cotyledon explants in apple, carrot, cherry, grapevine, cyclamen and various potentially new ornamentals. The induction of somatic embryogenesis was successful for cyclamen, clematis, caraway, leek and poinsettia. Similar to other *in vitro* reactions, the ability to generate somatic embryos is genetically determined and can be successfully selected for.

A particularly effective system allows the induction of somatic embryogenesis in controllable liquid culture systems, i.e. bioreactors. Parameters controlling the induction are glycoproteins, 1-naphthyl acetic acid, 4-chlorophenoxy acetic acid, isopentyl adenine and abscisic acid as well as anions and cations nutritionally relevant.

Demands for ever increasing efficiency of cultivated plants have become a problem for selection, since more and more characters are to be combined in a single plant. Among a multitude of individuals of one progeny, only few show the desired combination of characters qualifying them for further selection.

In rye breeding, the use of the gametophytic two-factor-selfincompatibility (SI) which results in a high degree of heterosis is intensely debated.

Efficient selection of hybrid parents necessitates the search for marker genes closely linked with the SI genes or for the SI genes themselves. For the molecular characterization of the incompatibility system of rye, a representative lambda-cDNA library was compiled from the pollen of the self-incompatible rye variety 'Halo'.

The coat protein gene of the ryegrass mosaic potyvirus (RgMV) was successfully transferred via *A. tumefaciens* and special constructs of *Lolium sp.* Resistance tests of the transgenic plants are in preparation.

Die Verwendung genomischer Marker wurde für verschiedene Pflanzenarten ausgebaut. Es gelang mit Hilfe der RAPD-PCR-Technik, die sechs verbreitetsten Rebuterlagen zu unterscheiden und die Vermutung zu untermauern, daß die Sorte 'Silvaner' nicht als Kreuzungselter in der Sorte 'Müller Thorgau' enthalten ist.

Mit Hilfe molekularer Marker wurden Apfelzuchtmaterial, Apfelsorten, spaltende Referenzpopulationen und Wildapfelherkünfte auf genetische Diversität untersucht. Es war möglich, eindeutige Charakterisierungen vorzunehmen und dabei auch den Nachweis der apomiktischen Abstammung von *Malus toringoides*-Sämlingen zu führen. Weiterhin gelang es, RAPD-Marker aufzufinden, die mit den Apfelmehltau- und Apfelschorffaktoren so eng gekoppelt sind, daß sie für eine markergestützte Selektion verwendbar sind.

Als Beispiel für die Anwendung nichtgenomischer Marker soll die Markierung aller Chromosomen einer Wildgerste mit Isoenzymmarkern genannt werden. Diese Markierung erlaubt es, ökonomisch und zuchtmethodisch wichtige Eigenschaften, wie z. B. die Mehltaresistenz und die Fähigkeit zur Induktion von haploiden Embryonen der Kulturgerste, entsprechenden Chromosomen zuzuordnen. Isoenzymmarker werden auch eingesetzt, um die erwünschte Kombination ganzer Genome, z. B. nach Fusion von Protoplasten, zu bestätigen. Der erfolgreichen Anwendung dieser Markierungsmethode bei der Kartoffel und der Gerste stehen Arbeiten bei Porree, Kohl, Alpenveilchen und Usambaraveilchen gegenüber.

Zur Entwicklung nichtgenomischer Marker ist auch die Bemühung zu nennen, durch Anfärbung die Chromosomen in differentielle Bereiche zu unterteilen, z. B. beim Apfel, oder durch In-situ-Hybridisierung zu charakterisieren. So gelang es sowohl bei Apfel und Rebe als auch bei Möhre und Sonnenblume, die NOR-Bereiche zu identifizieren. Bei der Apfelsorte 'Pinova' konnten vier NOR-tragende Chromosomenpaare identifiziert und den telomeren Bereichen der kurzen Chromosomenarme zugeordnet werden. Eine Karyotypanalyse mit Hilfe der computergestützten Bildanalyse ließ die Detektion von jeweils einem NOR-Bereich bei verschiedenen Möhrenarten und drei NOR-spezifischen Hybridisierungssignalen bei der Sonnenblume zu. In besonderen Fällen können als Marker auch Umwelteinflüsse verwendet werden.

Am weitesten fortgeschritten sind Gentransfervorhaben bei der Kartoffel. Mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens* wurde das Hüllprotein des Kartoffel-Y-Virus (PVY) übertragen, in genomischer DNA nachgewiesen und die Verteilung von mRNA im Pflanzengewebe durch RT-PCR in situ sichtbar gemacht.

#### 4. Verbesserung der Qualität pflanzlicher Produkte

Die Zielsetzung der Qualitätsforschung besteht darin, zunächst für die vom Konsumenten bzw. von der Agrarproduktion und verarbeitenden Industrie formulierten Qualitätsanforderungen Zuchtziele zu definieren.

Außer dem Nähr- und Gesundheitswert werden hierbei auch der Genuß- und Gesundheitswert pflanzlicher Produkte betrachtet.

The use of genomic markers was extended for numerous plant species. With the help of the RAPD-PCR technique, it was possible to distinguish the six most common rootstocks of grape, thus supporting the assumption that the variety 'Silvaner' is not a parent of the variety 'Müller Thorgau'.

Molecular markers were used to investigate the genetic diversity of apple breeding material, apple varieties, segregating reference populations and wild apple provenances. Detailed characterization proving the apomictical descent of *Malus toringoides* seedlings was possible. In addition, RAPD marker closely linked to apple mildew and apple scab resistance were found. Future marker-assisted selection seems a promising possibility.

An example for the application of non-genomic markers is the tagging of all chromosomes in wild barley with the help of isoenzym markers. Via tagging it is possible to associate economically and methodically important characters, e.g. resistance to mildew and the ability of cultivated barley to induce haploid embryos, with appropriate chromosomes. Isoenzym markers are also utilized to confirm the desired combination of entire genomes, e.g. after a protoplast fusion. This method was successfully applied to potato and barley and it is now under investigation for leek, cabbage, cyclamen and African violet.

Characterization of chromosomes by in situ hybridization as well as staining of chromosomes to identify differential zones (e.g. apple) should be mentioned when discussing the development of non-genomic markers. For apple and grapevine as well as for carrot and sunflower, it was possible to identify the NOR-regions. For the apple variety 'Pinova', four NOR-carrying chromosome pairs were identified which are associated with the telomere regions of the short arms of the chromosome. The karyotype analysis by means of computer-aided image processing detected one NOR-region in different carrot species and three NOR-specific signals of hybridization in sunflower. Under special circumstances, it is also possible to use environmental conditions as markers for selection.

To date, the greatest progress has been made in transforming potatoes. Utilizing *Agrobacterium tumefaciens* the coat protein of the potato virus Y was transferred. It was identified in the genomic DNA and the distribution of mRNA in the plant tissue was made visible through RT-PCR in situ.

#### 4. The improvement of quality in plant products

Prerequisite for successful quality research is a clear definition of demands and goals stated by the consumer, producer and the processing industries, respectively. Not only nutritional and health values, but also the interaction of health value and attractiveness for human consumption of plant products need to be examined.

Bei den in diesem Zusammenhang durchgeführten Forschungsarbeiten werden die betreffenden Kulturpflanzenarten hinsichtlich ihrer individuellen, wertgebenden Inhaltsstoffzusammensetzung mittels analytischer und sensorischer Methoden charakterisiert. Die bei den einzelnen Produkten jeweils gesetzten Qualitätsziele, die sich sowohl an wirtschaftlichen als auch gesellschaftlichen Anforderungen orientieren, beziehen sich dabei auf die durch Züchtung beeinflussbaren Inhaltsstoffkonzentrationen. Zur Bestimmung dieser einzelnen Haupt- und Minorkomponenten werden spezielle Methoden neu entwickelt bzw. bestehende Methoden aus anderen Applikationen auf die besonderen Anforderungen der Züchtungsforschung adaptiert.

Zur Charakterisierung der in der Bearbeitung befindlichen landwirtschaftlichen Kulturen (Roggen, Triticale, Weizen, Gerste, Kartoffel, Erbse, Ackerbohne) werden insbesondere die verschiedenen Stärkebestandteile (Amylose-, Amylopektin-, Lipid-, Protein- und Phosphatgehalte) und Nicht-Stärkepolysaccharide (Pektine, beta-Glucane und Pentosane) als Hauptbestandteile der Zellwand, die Fettsäurezusammensetzung der Lipide sowie die Hydrolasen inklusive der proteinogenen Inhibitoren analysiert. Darüber hinaus wird mittels chemischer, physikalischer und biochemischer Methoden die stoffliche Zusammensetzung der Zellwände charakterisiert. Am Beispiel der Kartoffel wird modellhaft mittels extrazellulären Enzymgemischen aus *Erwinia carotovora* bzw. mittels reiner Pektinasen, Cellulasen und Proteasen, die über die Isolation der entsprechenden Enzymgene und deren Expression in *E. coli* pT7-7 System gewonnen werden, die Stabilität der Zellwand bzw. der Einbau der Einzelkomponenten in die Zellwandmatrix untersucht.

Bei den behandelten Obst- und Gemüsekulturen (Erdbeere, Apfel, Kirsche, Wein, Kohl, Möhre) stehen dagegen mehr solche Untersuchungen im Mittelpunkt, die eine möglichst verlässliche Charakterisierung der geschmacklich bedeutsamen und für die menschliche Gesundheit maßgeblichen Nebenkomponenten in den Früchten unterschiedlicher Genotypen zulassen. Außer den hierbei relevanten Verbindungsklassen, wie z.B. Zucker, Fruchtsäuren und Aromastoffe, werden daher auch Vitamine, gesundheitsfördernde Inhaltsstoffe des pflanzlichen Sekundärstoffwechsels sowie antinutritive Verbindungen wie z.B. bestimmte Glukosinolate betrachtet. Auch der Bestimmung farbgebender Inhaltsstoffe (z.B. Carotinoide) kommt bei der Qualitätsbeurteilung eine wichtige Bedeutung zu; es werden daher in diesem Zusammenhang Schnellmethoden erarbeitet, die vorrangig eine anwendungsorientierte Verwendung in der Züchtungsforschung zum Ziel haben. Zur Beurteilung des Genußwertes werden darüber hinaus sensorische Untersuchungen durchgeführt; die hierbei erhaltenen Ergebnisse werden mit den analytischen Befunden entsprechend korreliert.

Am Beispiel von 13 Kulturerdbeersorten und von Walderdbeeren werden anhand von GC/MS-Untersuchungen ca. 120 flüchtige Verbindungen identifiziert.

The individual, value-determining compound compositions in the respective cultivated plants are determined by means of analytical and sensory methods. Quality standards formulated for specific products are influenced by economic and social requirements and limited to characteristics to be influenced by breeding. To determine these major or minor components, specific methods were newly developed or methods already existing for other applications were adopted to the particular aims of breeding research.

To characterize agricultural crops (e.g. rye, triticale, wheat, barley, potato, pea and Faba beans) analyses concentrate on starch components (contents of amylose, amylopectin, lipid, protein and phosphate), non-starch polysaccharides (pectins,  $\beta$  glucans and pentosans) being the main components of the cell wall, the fatty acid composition of lipids, and on hydrolases including proteinogenic inhibitors. In addition, the composition of cell walls is characterized via chemical, physical and biochemical methods. Potato serves as a model to investigate the stability of cell walls and the integration of single components into the cell wall matrix by means of extracellular enzyme mixtures, generated from *Erwinia carotovora*. Pure pectinases, cellulases and proteases which were obtained via isolation of the respective enzyme gene and its subsequent expression in the *Escherichia coli* pT7-7 system were also employed.

For fruits and vegetables (strawberry, apple, cherry, grapevine, cabbage, carrot), the main emphasis is placed on a dependable characterization of the minor components responsible for flavour and human well-being in the fruits of differing genotypes. In addition to important compounds such as sugar, fruit acids and flavouring substances, the tests also emphasize vitamins, health-promoting substances of the plant's secondary metabolism as well as antinutritive compounds, e.g. glucosinolates. Colour-determining constituents (e.g. carotenoids) are also considered important quality criteria. Methods for a rapid determination are being developed and introduced into breeding research. In addition, sensory analyses evaluate the attractiveness value for human consumption, obtained results correlated with the analytical results.

120 volatiles were identified via GC/MS in 13 varieties of cultivated and wild strawberries.

Über eine Aromaextrakt-Verdünnungsanalyse gelingt es mittels GC-Olfaktometrie, aus den komplexen Aromaprofilen 17 Schlüsselkomponenten zu ermitteln. Trotz der beobachteten, umweltbedingten Variabilität der geschmacksbildenden Inhaltsstoffe wird festgestellt, daß die teilweise sehr differierenden Aromaprofile in hohem Maße genotypische Merkmale darstellen. Insgesamt können bei den untersuchten Erdbeersorten die folgenden 3 Typen unterschieden werden:

- Methylantranilat (MA)-Typ (hohe Anteile MA und würzige Anteile wie Eugenol und Nicotinsäureester),
- Virginia-Typ (relativ hoher Fruchtster-Anteil),
- Furanol-Typ (relativ hoher sogenannter "off-flavour"-Komponenten wie Furanol, Methoxyfuranol sowie C<sub>4</sub>-, C<sub>6</sub>- und C<sub>8</sub>-Fettsäuren).

Große Fortschritte werden ebenfalls bei der Analyse eines sortencharakteristischen Weinbuketts erzielt. Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse gelingt es hier, aus dem sehr komplex aufgebauten Weinaroma 18 Monoterpenverbindungen (u.a. Linalool, Geraniol, alpha-Terpineol) zu selektieren, auf deren Basis eine signifikante, analytische Differenzierung der meisten Standardsorten (Riesling, Silvaner, Morio-Muskat, Traminer) sowie der vom Riesling abstammenden Neuzüchtungen möglich ist. Zahlreiche flüchtige Aromastoffe (u.a. Monoterpene, C<sub>6</sub>-Alkohole, Norisoprene) liegen in der Weinbeere in glykosidisch gebundener Form vor. Diese Verbindungen können mit speziellen Verfahren isoliert und durch entsprechende Enzyme (Glykosidasen) vom Zuckerrest abgetrennt und anschließend gaschromatographisch bestimmt werden. Durch eine gleichzeitige Betrachtung freier und glykosidisch gebundener Aromakomponenten kann die diskriminanz-analytische Differenzierung der einzelnen Rebsorten deutlich verbessert werden; auch Neuzüchtungen gleicher Abstammung lassen sich mittels dieser Methodik eindeutig voneinander unterscheiden. Zum Nachweis der im Wein auftretenden, unerwünschten Aromastoffe, die insbesondere durch erhöhte Gehalte von Furanol und Vinyl- bzw. Ethylphenolen verursacht sind, werden empfindliche Bestimmungsmethoden erarbeitet und die unterschiedlichen Ursachen für deren Entstehung aufgeklärt.

Im Falle der bearbeiteten Medizinal- und Gewürzpflanzenarten besteht die Zielsetzung einerseits darin, den Gehalt wertgebender Inhaltsstoffe (etherisches Öl inkl. ausgewählter Terpenkomponenten) im Hinblick auf den jeweils vorgesehenen Verwendungszweck zu optimieren und andererseits Mikromethoden zu entwickeln, die eine schnelle und zuverlässige Bestimmung der im Rahmen der Züchtungsforschung gesetzten Anforderungen zulassen. In diesem Zusammenhang werden neue Extraktions- und Mikrodestillationstechniken an Kümmel, Fenchel, Dill, Koriander, Pfefferminze, Majoran, Basilikum, Thymian und Kamille erarbeitet; bei der Auswahl der geeigneten Methodik wird auch berücksichtigt, daß bei der erforderlichen Probenaufbereitung möglichst wenig Artefakte erzeugt werden.

17 aromatic key compounds were identified among the complex aromatic profiles in a dilution analysis via CG olfactometry. Although flavouring substances exhibit high environmental variability it was demonstrated that often very different aroma profiles are to a high degree genotypically fixed. In summary, three types were identified among the tested strawberry varieties:

- methylantranilat (MA) type (high amount of MA and wort compounds such as eugenol and nicotinic acid ester),
- virginiana type (relatively high fruit ester content)
- furaneol type (relatively high amount of so-called „off-flavour“ compounds, e.g. furaneol, methoxyl-furaneol and C<sub>4</sub>, C<sub>6</sub> and C<sub>8</sub> fatty acids).

Considerable progress was made in the analysis of the a variety-typical wine bouquet. A discriminant analysis was employed to select 18 monoterpene compounds (among others linalool, geraniol,  $\alpha$  terpineol) from the rather complex aroma. Monoterpene compounds are of major importance for a significant, analytical differentiation of most standard varieties (Riesling, Silvaner, Morio-Muskat, Traminer) and new varieties derived from Riesling. A number of volatile flavouring compounds (monoterpene, C<sub>6</sub> alcohols, norisoprene among others) are glycosidically bound in the grape. These compounds can be isolated and separated from rest sugar by enzymes (glycosidases), and subsequently determined by gas chromatography. A simultaneous evaluation of free and glycosidically bound aroma compounds can considerably improve the discriminant-analytical differentiation of individual grapevine varieties, including a definite distinction of new varieties of the same origin. Highly sensitive determination methods are being developed to identify and determine the biochemical basis of the undesired aroma notes in wine mainly related to high contents of furaneol and vinyl- and ethylphenols.

The main objective for medicinal and aromatic plants is (i) the optimization of value-determining compounds (etheral oils, selected terpene compounds included) in relation to the intended use, (ii) the development of micromethods which allow for a rapid and reliable analysis of the research goals. Extraction and microdistillation techniques are being developed for caraway, fennel, dill, coriander, peppermint, marjoram, basil, thyme, chamomile. Emphasis is placed on methods generating the fewest artefacts during sample preparation.

Um Fehlselektionen bei der Züchtung zu vermeiden, ist es bei einigen Kulturarten notwendig, das Probenmaterial auf Vor- und Nachernteschäden zu prüfen und ggf. wirksame Gegenmaßnahmen (z.B. Verbesserung der Auswuchs- und Krankheitsresistenz bei Kartoffel) zu entwickeln.

The sample material of some cultivated plants must be tested for pre- or post-harvest damages to avoid errors in selection. If necessary, effective counter-measures (e.g. improvement of resistance to sprouting and diseases in potato) must be introduced.

Gerhard Proeseler

## IV. Forschung Research

### Institut für Zierpflanzenzüchtung Institut for Ornamental Plant Breeding Ahrensburg

Das Institut für Zierpflanzenzüchtung ist aus einer am 1. April 1948 von v. Sengbusch gegründeten Forschungsstelle hervorgegangen, die 1959 den Status eines eigenständigen Max-Planck-Institutes für Kulturpflanzenzüchtung erhielt. Im Jahre 1970 wurde diese Einrichtung als Bundesforschungsanstalt für Gartenbauliche Pflanzenzüchtung in den Geschäftsbereich des Bundesministers für Ernährung, Landwirtschaft und Forsten übernommen. Zu den Forschungsaufgaben gehörte die züchterische Bearbeitung von Gemüse- und Zierpflanzenarten sowie von Baumobst.

Nach sehr kurzer Vereinigung mit dem Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof wurde das Institut für Gartenbauliche Pflanzenzüchtung im Januar 1993 als Institut für Zierpflanzenzüchtung der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen (BAZ) zugeordnet. Die Züchtungsvorhaben an Gemüsearten sind eingestellt, die an Obstarten werden abgeschlossen und teilweise an das Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz der BAZ verlegt. Das Institut für Zierpflanzenzüchtung hat jetzt die Aufgabe, bei ein- und mehrjährigen krautigen und verholzenden Pflanzenarten Zuchtmethoden zu erarbeiten und genetisch definiertes Basismaterial zu erstellen. Dabei stehen Aspekte der gesunden Pflanze und der Produktqualität im Vordergrund.

The Institute for Ornamental Plant Breeding originates from the v. Sengbusch Research Station founded in 1948, and integrated into the Max-Planck Society as Institute for Research on Cultivated Plants in 1959.

In 1970 this Institute was taken over by the Federal Ministry of Food, Agriculture and Forests as Federal Center for Breeding Research on Horticultural Plants. The research activities were concentrated on vegetables, ornamentals and later on fruit trees, as well.

After a very short reunion with the Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof the former Institute for Horticultural Plant Breeding was in 1993 assigned as Institute for Ornamental Plant Breeding to the Federal Center for Breeding Research on Cultivated Plants (BAZ). The breeding research in vegetables is ceased, those in fruit species will be completed and partly transferred to the BAZ Institute for Fruit Breeding Dresden-Pillnitz.

The Institute for Ornamental Plant Breeding is now in charge to develop breeding methods in annual and perennial plant species, and to make basic material available. In this connection aspects of plant health and product quality are to the fore.

#### 1. Gentechnologie Gentechnology

##### 1.1. Molekulargenetische Charakterisierung der Wechselwirkung zwischen Rosen und Rosenpathogenen

##### Molecular characterization of interactions between roses and rose pathogens

Debener, T.; Rockstroh, K.

*Die kultivierten Rosen besitzen überwiegend keine genetisch bedingten Resistenzen gegenüber den wichtigsten Pathogenen, wie z. B. den Sternrußtau (*Marssonina ro-**

*sae*). Die aus ökologischen Gründen zu begrenzende Anwendung von Pflanzenschutzmitteln macht die Entwicklung resistenter Rosengenotypen notwendig. Dazu sollen die Wechselwirkungen zwischen Schaderregern und Rosen untersucht werden.

*In general, cultivated roses lack resistance functions against the main pathogens. As ecological reasons limit the application of pesticides the development of resistant varieties becomes necessary. Therefore, the interactions of pathogens and roses have to be investigated.*

Da sich die Erhaltung verschiedener Sternrußtauisolate ohne Virulenzverlust als sehr schwierig erwies und eini-

ge der in früheren Arbeiten verwendeten Isolate ihre Virulenz bereits verloren hatten, wurden Versuche durchgeführt, die Virulenz der Isolate durch die Infektion von abgetrennten und oberflächensterilisierten Blättern zu erhalten. Hierzu wurden rund 40 neue Einsporlinien von verschiedenen Standorten hergestellt. Es zeigte sich, daß die meisten Einsporlinien die vorbehandelten Blätter infizierten. Da die Virulenz des Pathogens auf Blättern auch nach längerer Zeit in tiefgefrorenem Zustand erhalten bleibt, bietet sich so die Möglichkeit, ohne größeren Aufwand zahlreiche Einsporisolate zu lagern.

Da sich für die Isolierung von Rosen-RNA Standardmethoden aufgrund verschiedener Inhaltsstoffe nicht anwenden ließen, wurde ein modifiziertes, von einer Gesamtnukleinsäureisolierung angeleitetes Protokoll erarbeitet. Basierend hierauf soll im nächsten Schritt eine stadienspezifische cDNA-Bank aus infizierten Rosenblättern hergestellt werden. Diese dient zur Isolierung von Genen, die früh im Infektionsverlauf exprimiert werden.

#### Abstract:

In order to investigate the genetic basis of the resistance against blackspot in roses about 40 different single spore isolates have been produced. The virulence of these isolates can be maintained by drop inoculation of conidia onto excised leaves. Many isolates can be conveniently stored as frozen conidia on these leaves.

(BAZ-6113)

In Zusammenarbeit mit: Drewes-Alvarez, TH Dresden 001

#### 1.2. Charakterisierung und Isolierung von wirtschaftlich wichtigen Genen aus *Rosa spec.* Characterization and isolation of economically important genes from *Rosa spec.*

Debener, T.; Mattiesch, L.; Bartels, C.\*); Kaufmann, H.

*Rosenzüchtung ist auf Grund des Reproduktionssystemes und der genetischen Konstitution der Rosen ein zeitlich langfristiges Vorhaben. Nach genetischer Charakterisierung, Markierung mit molekularen Markern und Isolierung entsprechender Resistenzgene können diese Zeiträume drastisch verkürzt werden.*

*Rose breeding is time consuming due to the generative reproduction and complex genetic constitution. The time*

*to produce a cultivar could be reduced after characterizing, mapping or even isolating appropriate resistance genes.*

Im Winter 1993/1994 waren zahlreiche Kreuzungen zwischen diploiden Rosengenotypen vorgenommen worden, um wichtige morphologische Merkmale auf der diploiden Ebene untersuchen zu können und eine Chromosomenkarte mit Hilfe molekularer Marker zu erstellen. 1995 konnten Sämlingsnachkommenschaften aus 6 verschiedenen Kreuzungen mit je 64 bis 120 Nachkommen untersucht werden. Vier morphologische Merkmale (Blütenfarbe, Blütenform, Bestachelung und Blüte am einjährigen Holz), die gleichzeitig wichtige Selektionskriterien in der Züchtung darstellen, spalteten z.T. in mehreren Kreuzungen jeweils als Einzellocus auf.

Nachdem im Jahr 1994 neue Strategien zur Erzeugung von RAPD-Polymorphismen bei Rosen erfolgreich angewendet werden konnten, wurden 14 verschiedene diploide Rosengenotypen, die als Eltern für insgesamt 8 Kreuzungsnachkommenschaften dienten, mit 16 bis 18 RAPD-Primern bzw. -Primerkombinationen untersucht (Tab. 1). Zwischen den beiden Elterngenotypen der Kreuzung 94/1, für die insgesamt 104 Nachkommen zur Verfügung standen, ergab sich der höchste Polymorphiegrad, so daß in dieser Population mit der Erstellung einer molekularen Markerkarte begonnen wurde. Zusätzlich zur Aufspaltung der molekularen Marker konnten in der Kreuzung 94/1 auch die Aufspaltung der roten Blütenfarbe und der Blütenfüllung als einzelner Locus beobachtet werden.

In der Kreuzung 94/1 wurden ca. 70 polymorphe RAPD-Fragmente mit Spaltungsverhältnissen von 1:1 und 3:1 ausgewertet. Sie lassen sich bisher 6 verschiedenen Kopplungsgruppen mit mehr als 3 Markern sowie mehreren Kopplungsgruppen mit 1 bis 3 Markern zuordnen. Sowohl für das Merkmal „Blütenfüllung“ als auch für die rote Blütenfarbe wurden bereits gekoppelte Marker gefunden. Durch die zusätzliche Analyse von kodominanten RFLP sowie weiterer RAPD- und AFLP-Marker wird die Fertigstellung einer ersten Kopplungskarte bis zum Frühjahr 1996 angestrebt.

Mit Unterstützung von Frau Dr. C. Gebhardt vom Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung in Köln wurde außerdem die AFLP-Technik (Amplified Fragment

Tab. 1: Anteil der Primer/Primerkombinationen mit polymorphen RAPD-Fragmenten zwischen den Elterngenotypen verschiedener Kreuzungen

| Kreuzung | Zahl der getesteten Primer | Zahl der Primer und prozentueller Anteil mit Unterschieden zwischen den Kreuzungseltern |
|----------|----------------------------|---|
| 94/1     | 17                         | 14 (82 %)   |
| 94/2     | 18                         | 10 (56 %)   |
| 94/3     | 18                         | 13 (72 %)   |
| 94/4     | 18                         | 13 (72 %)   |
| 94/7     | 16                         | 11 (69 %)   |
| 94/8     | 17                         | 12 (71 %)   |
| 94/10    | 17                         | 9 (52 %)  |
| 94/11    | 16                         | 11 (69 %)   |

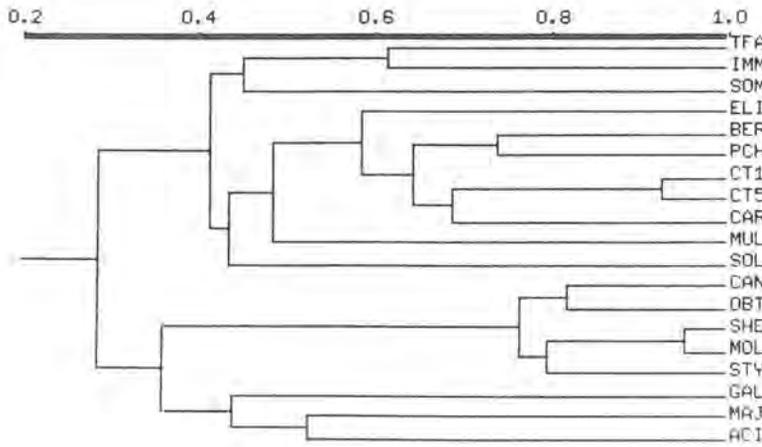


Abb. 1: Dendrogramm von Rosenarten und -sorten auf der Basis von 104 RAPD-Markern. Die relativen genetischen Abstände wurden mit dem Jaccard-Index berechnet und das Dendrogramm mit der UPGMA-Methode erstellt. Die Abkürzungen für die verwendeten Genotypen sind: TFA = 'The Fairy', IMM = 'Immensee', ELI = 'Elina', SOL = 'Soleil d'Or', BER = 'Berolina', PCH = 'Pariser Charme', SOM = 'Sommermond', CT1 = 91/100-1, CT2 = 91/100-5, CAR = 'Caramba', MUL = 88/124-46, CAN = *Rosa canina*, SHE = *R. sherardii*, OBT = *R. obtusifolia*, GAL = *R. gallica*, STY = *R. stylosa*, MAJ = *R. majalis*, ACI = *R. acicularis*, MOL = *R. mollis*

Length Polymorphism) für Rosen-DNA etabliert und nach Anpassungen an die apparative Ausstattung des IZZ erste Analysen für die Eltern der Kreuzung 94/1 durchgeführt. Diese Technik ermöglicht die schnelle Erfassung sehr großer Markermengen in kurzer Zeit und soll 1996 sowohl für eine Sättigung der Rosenmarkerkarte als auch für die Feinkartierung monogener Merkmale eingesetzt werden.

Arbeiten zur Anwendung von RAPD-Markern zur Sortenidentifizierung, zur Charakterisierung der genetischen Diversität von Rosensorten und -arten sowie zur Elternschaftsanalyse wurden im Rahmen einer Diplomarbeit (Ch. Bartels) abgeschlossen. Es konnte gezeigt werden, daß entgegen den Beobachtungen auf der Basis morphologischer Merkmale RAPD-Marker einen hohen Grad an genetischer Diversität zwischen Rosengentypen im Vergleich zu Wildarten aufdecken (Abb. 1). Dadurch bedingt besitzen sie ein entsprechend hohes Potential zur Unterscheidung von Rosensorten. Es konnte dementsprechend weiter gezeigt werden, daß sie sich hervorragend zur Nachkommenschaftsanalyse in solchen Artkreuzungen eignen, die muttergleiche Nachkommen hervorbringen.

Im Rahmen eines Wiedereinstiegsstipendiums für Frauen (H. Kaufmann) wurde ab Juli 1995 damit begonnen, eine BAC-Bank (**B**acterial **A**rtificial **C**hromosome) aus *Rosa rugosa*-DNA zu erstellen. Ziel ist eine Genbank mit rund 6000 Klonen von ca. 150 kb durchschnittlicher Länge,

mit deren Hilfe Rosengene über ein sogenanntes „Chromosome walking“ isoliert werden können. Erste Vorarbeiten zur Isolierung von hochmolekularer DNA aus Zellkernen, zum partiellen Verdau und zur Größenfraktionierung in Agaroseblöcken, sowie Klonierungsexperimente wurden bereits durchgeführt.

#### Abstract:

In roses the inheritance of four morphological characters has been investigated in crosses between diploid genotypes. In one of these crosses the analysis of RAPD markers will soon allow the construction of a molecular marker map for roses. For this purpose novel marker techniques e.g. AFLP's have been adapted. The analysis of cultivated varieties and selected wild species with RAPD markers detected a large amount of genetic variation among the varieties. The first steps towards the construction of a BAC library for the isolation of interesting genes via „chromosome walking“ have been performed.

(BAZ-6114)

In Zusammenarbeit mit: Drewes-Alvarez, TH Dresden; Gebhard, Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Köln; Jung, Univ. Kiel

\*) Diplomand Univ. Hannover

002

### 1.3. Erstellung einer gesättigten Genkarte beim Apfel als Grundlage für die Entwicklung von effizienten Zuchtverfahren zur Schaffung von qualitativ hochwertigen, krankheitsresistenten Apfelsorten

#### Construction of a saturated linkage map in apple as a basis for efficient breeding of high-quality, disease resistant varieties

Dunemann, F.; Bräcker, G.; Schmidt, H.

*Die Entwicklung effizienter Züchtungsverfahren zur Schaffung qualitativ hochwertiger Apfelsorten mit deutlich geringerem Anspruch an den Einsatz von Agrochemikalien setzt die Verfügbarkeit geeigneter genetischer Marker voraus. Da morphologische Marker beim Apfel nur in sehr begrenztem Umfang bekannt sind, sollen eine große Zahl verschiedener molekularer Marker entwickelt und Genomkartierungen durchgeführt werden. Die hierbei gewonnenen Informationen würden die Selektionseffizienz bezüglich gewünschter Genkombinationen erheblich steigern.*

*The availability of suitable genetic markers is essential for the development of efficient breeding methods to create apple varieties with high fruit quality and low demand for agrochemicals. As in apple the number of known genes usable as morphological markers is very limited, the development of molecular markers and usage*

*of genome mapping techniques would considerably increase the selection efficiency for desired gene combinations. Research related to the (molecular) genetics of resistances, fruit quality, and tree growth characteristics shall be combined with existing methods to breed new apple varieties.*

Die Genomanalyse des Apfels erfolgt auf der Grundlage von insgesamt fünf Referenzpopulationen, die auf Kreuzungen zwischen genetisch stark differenzierten Genotypen zurückgehen und die für die Mehrzahl der heute beim Apfel bekannten Gene eine Aufspaltung zeigen. Zusammen mit Instituten aus acht europäischen Ländern wird im Rahmen des „European Apple Genome Mapping Project“ nicht nur an der Gewinnung molekulargenetischer Informationen gearbeitet, sondern auch versucht, auf der Basis von parallel an verschiedenen Standorten aufgepflanzten Nachkommenschaften eine möglichst umfassende phänotypische Charakterisierung und Dokumentation von Resistenz-, Frucht- und Baummerkmalen vorzunehmen.

Zu den Aufgabenbereichen des Institutes für Zierpflanzenzüchtung gehört im Rahmen des "European Apple Genome Mapping Project" die Identifizierung und Kartierung von RAPD- und RFLP-Markern für die Population 'J', die auf eine Kreuzung der Sorten 'Fiesta' und 'Prima' zurückgeht. In einem dreistufigen Verfahren wurden informative Randomprimer (Decamere) selektiert und auf Basis einer kleinen Subpopulation von 45 Individuen vorläufig kartiert. Nichtgeclusterte Marker mit guter technischer Zuverlässigkeit wurden auf alle 160 Pflanzen der Population 'J' angewandt. Insgesamt wurden bisher 90 RAPD kartiert, davon etwa die Hälfte auf Gesamtpopulationsbasis. Nur ein einziger codominanter RAPD (1 %) konnte bislang identifiziert werden. Die RFLP-Markertechnik wurde aufgrund zu ungleichmäßiger Hybridisierungsergebnisse von einem nichtradioaktiven Verfahren auf konventionelle <sup>32</sup>P-Markierung umgestellt. Etwa 30 informative RFLP-Sonden wurden aus einer genomischen PstI-Bibliothek selektiert und zum Teil auch bereits kartiert. Unter Einbeziehung aller verfügbaren genotypischen Daten der einzelnen Partnerinstitute wurde am CPRO-DLO (Wageningen/Niederlande) eine vorläufige Chromosomenkarte für die Population 'J' erstellt, die zur Zeit ca. 200 DNA- und Isoenzymmarker enthält. Einige interessante Kopplungen mit agronomisch wichtigen Genen liegen bereits vor, so z. B. für Schorf- und Blattlausresistenz.

Am IZZ wurde inzwischen mit der Kartierung einer zweiten Referenzpopulation begonnen. Die Population 'Y' ('Fiesta' x SA 572/2) spaltet für eine Reihe zusätzlicher monogener vererbter Merkmale, wie z.B. den columnar-Wuchstyp (co-Locus) oder eine Mehlauresistenz aus *Malus zumi* (PI<sub>2</sub>-Locus). Etwa 50 RAPD konnten bislang auf Teilpopulationsbasis kartiert werden. Ein Teil dieser Marker segregiert sowohl in der Population 'J' als auch in 'Y' und kann daher zur Berechnung einer vereinten Karte verwendet werden.

Abstract:

Genome analysis of apple is being performed on the basis of five reference populations representing a wide spectrum of apple genotypes. These progenies, segregating for most of the known apple genes, are used both for construction of molecular marker maps and for a detailed phenotypic characterization and documentation. One of the major tasks of IZZ is a molecular mapping of the population 'J' ('Fiesta' x 'Prima') with RAPD and RFLP markers. Ninety RAPD were identified and mapped, 45 of them on a total population basis (160 genotypes). RFLP mapping is in progress using a genomic PstI library of apple. RAPD mapping of a second progeny ('Fiesta' x SA 572/2) has been started. About 50 RAPD were analyzed, partly segregating in both mapping populations. These markers shall be used to construct a combined linkage map for apple.

(BAZ-6111)

In Zusammenarbeit mit: Maliepaard, CPRO-DLO, Wageningen (Niederlande); King, HRI, Wellesbourne (Großbritannien); Wissenschaftlern der am EU-Projekt: „Development of the European Apple Group“ (AIR3-CT920473) beteiligten Partnerinstitute INRA, Angers (Frankreich), PIN, Naoussa (Griechenland), DCA, Bologna (Italien); ETH Zürich (Schweiz)

003

#### 1.4. Molekulargenetische Charakterisierung von Resistenzgenen beim Apfel Molecular genetic characterization of resistance genes in apple

Dunemann, F.; Markussen, T.; Schmidt, H.

*Die züchterische Verbesserung des Apfels hinsichtlich einer verringerten Anfälligkeit gegenüber den wirtschaftlich wichtigsten Pilzkrankheiten Schorf und Mehltau erfordert einen sehr hohen Zeitaufwand. Um Verfahren zur markergestützten Selektion erwünschter Resistenzgenkombinationen anwenden zu können, sollen Kopplungskarten auf der Basis von DNA-Markern entwickelt werden. Resistenzgene sollen molekulargenetisch charakterisiert und damit einer späteren Isolierung zugänglich gemacht werden.*

*Breeding new apple varieties with a decreased susceptibility to the most important fungus diseases scab and mildew is a time consuming process. In order to use marker based selection procedures, genetic maps will be constructed on the basis of DNA markers. Markers found in sufficient tight linkage with resistance loci will be applied directly in a breeding programmes. Molecular characterization of resistance genes would allow a medium-term gene isolation and the transfer in economically important apple varieties.*

Zur Identifizierung von RAPD-Markern, die mit dem aus *Malus robusta* in *M. x domestica* introgressierten Mehlauresistenzgen PI<sub>1</sub> gekoppelt sind, wurde das Verfahren einer "bulk segregant"-Analyse eingesetzt. In einer ersten Untersuchungsreihe wurden etwa 800 einzelne Randomprimer und Primerkombinationen unter Verwen-

dung von "mehltauresistenten" und "anfälligen" DNA-Pools getestet.

Die in diesem Stadium selektierten polymorphen Marker wurden in einer zweiten Untersuchungsreihe daraufhin geprüft, ob sie auf den Resistenzendonoren zurückzuführen sind und daher introgressierte *M. robusta*-DNA-Abschnitte repräsentieren. Die in diesem Schritt selektierten RAPD-Marker wurden schließlich auf die aus 64 Pflanzen bestehende und für das Merkmal „Mehltauresistenz“ 1:1 aufspaltende Apfelpopulation 93/3 übertragen. Es wurden sieben RAPD identifiziert, die zusammen mit dem  $Pl_1$ -Locus einer gemeinsamen Kopplungsgruppe zugeordnet werden konnten. Die ermittelten Rekombinationsfrequenzen betragen für die am engsten gekoppelten Marker OPAT20<sub>450</sub> und OPD2<sub>1000</sub> 4 bzw. 5 cM. Beide RAPD sind mit dem Resistenzgen eng genug gekoppelt und können für markergestützte Selektionen in Apfelzuchtprogrammen eingesetzt werden. Ausgehend vom Marker OPAT20<sub>450</sub> wurde zusätzlich ein sehr einfach zu analysierender SCAR-Marker entwickelt, der in gleicher Weise mit der Mehltauresistenz cosegregiert. Eine Feinkartierung des resistenztragenden Chromosomenabschnitts wurde begonnen. Die Analyse potentiell gekoppelter RFLP-Marker ist noch nicht abgeschlossen.

Ein zweites wirtschaftlich bedeutendes Mehltauresistenzgen ist das aus *M. zumi* stammende  $Pl_2$ -Gen. Eine für dieses Resistenzgen spaltende Apfelnachkommenschaft wurde in die Untersuchungen einbezogen. Mit vier der sieben RAPD-Primer, die  $Pl_1$ -Marker produzierten, konnten auch Marker für die  $Pl_2$ -Resistenz erstellt werden. Es ist daher sehr wahrscheinlich, daß die beiden Mehltauresistenzgene gekoppelt sind.

Aufgrund der Konzentration auf die Mehltauresistenz wurden 1995 keine weiteren gezielten Ansätze zur Markerselektion für Schorfresistenz durchgeführt.

Um die Anwendbarkeit der identifizierten RAPD-Marker für Mehltau- und Schorfresistenz zu überprüfen, wurden etwa 500 Apfelsämlinge eines aktuellen Sortenzuchtvorhabens einige Wochen nach der Aussaat einer PCR-Analyse unterzogen.

Hierzu wurde die DNA in einem sehr einfachen und schnellen Verfahren nach einem chemischen Zellaufschluß mittels Kaliummethylxanthogenat (PEX) isoliert und die Anwesenheit der entsprechenden Markerfragmente ermittelt. Ob die auf diese Weise selektierten Genotypen dem angestrebten Ziel einer Doppelresistenz gegen Schorf und Mehltau entsprechen, kann erst 1996 abschließend bewertet werden.

#### Abstract:

The availability of molecular markers linked to scab and mildew resistance genes would enhance the efficiency of apple breeding programmes. The objective of this investigation was focused on the identification of RAPD markers linked to the  $Pl_1$  gene for mildew resistance, which has been introgressed from *M. robusta* into cultivated apples. The RAPD marker technique was combined with a modified "bulked segregant analysis" mapping

strategy. About 850 random decamer primers used as single primers or in combinations were tested by PCR analysis on the basis of "resistant" and "susceptible" DNA pools. Seven RAPD markers, all representing introgressed DNA sequences from *M. robusta*, were identified and arranged with the  $Pl_1$  locus in a common linkage group (Fig. 1). The two most tightly linked RAPD markers, OPAT20<sub>450</sub> and OPD2<sub>1000</sub> are suited for marker-assisted selection in apple breeding. The polymorphic DNA fragment OPAT20<sub>450</sub> was converted to a SCAR marker, which was easier to score than the original RAPD marker. This marker was applied, in addition to the RAPD marker OPA15-900, which is linked to the  $V_f$  gene for scab resistance, to about 500 seedlings of an actual apple breeding material to select genotypes carrying both resistances for scab and mildew attack, respectively.

(BAZ-6112)

In Zusammenarbeit mit: Büttner, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Schreiber, BAZ, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz.

004

#### 1.5. Genetische und molekulargenetische Charakterisierung der kalkbedingten Eisenchlorose bei Rhododendron

##### Genetic and moleculargenetic characterization of the limeinduced iron chlorosis in Rhododendron

Dunemann, F.; Kahnau, R.; Stange, I.; Merkt, B.; Chaanin, A.

*Die wichtigste abiotische Schadursache bei Rhododendron ist die auf eine ausgeprägte Empfindlichkeit gegenüber hohen Bicarbonat-Gehalten im Boden zurückzuführende Eisenmangelchlorose. Das Anbaugelände für Rhododendron könnte ohne weitere Erhöhung des Torfverbrauches ausgedehnt werden, wenn kalktolerante Formen gezielt durch züchterische Maßnahmen oder über einen gentechnologischen Ansatz geschaffen werden könnten. Neben der klassisch-genetischen Analyse von Kreuzungsnachkommenschaften wird im Rahmen einer Genkartierung versucht, molekulare Marker für die Eigenschaft „Kalktoleranz“ zu finden.*

*Bicarbonate induced chlorosis caused by iron deficiency is the most important nutritional disease in Rhododendron. The area of Rhododendron cultivation could be extended without further increase of peat consumption, if lime tolerant genotypes could be generated by conventional breeding or gene transfer approaches. As there is little knowledge about the genetics of lime tolerance, crosses between cultivars and wild species with an opposite tolerance behaviour have been performed. Besides the classical genetic analysis, a moleculargenetic approach is set up to develop molecular markers and to construct a linkage map for Rhododendron.*

Ausgehend von Rhododendron-Genotypen mit sehr unterschiedlichem Verhalten gegenüber hohen Bicarbonat-Gehalten im Boden, wurden weitere Kreuzungsnachkommenschaften erstellt. In einem diallelen Kreuzungs-

experiment soll die zugrundeliegende, sehr wahrscheinlich komplexe, Vererbung des Merkmals „Kalktoleranz“ näher untersucht werden. Die genetische Analyse der F<sub>1</sub>-Nachkommenschaft RD 1/2, die im Jahr 1994 begonnen worden war, wurde fortgesetzt. Zahlreiche Geschwister-Kreuzungen, Selbstungen und Rückkreuzungen konnten 1995 durchgeführt werden. Weitere 80 Genotypen der Nachkommenschaft RD 1/2, die auf die Kreuzung der Sorte 'Cunningham's White' (CW) mit einem deutlich empfindlicher reagierenden Unterlagenklon zurückgeht, wurden unter Anwendung einer In-vitro-Vermehrungsmethode verklont. Ein erster In-vivo-Streßtest dieses Materials wurde durchgeführt. Es wurde dabei ein Gießverfahren erfolgreich erprobt, welches auf einer 2...3 x wöchentlich durchgeführten Gießbehandlung mit 20 mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>-Lösung basierte. Die Ergebnisse zeigten, daß die phänotypische Variation des Merkmals „Fe-Chlorose“ innerhalb der Klone eines Genotyps relativ gering war, während zwischen den Genotypen sehr prägnante Unterschiede beobachtet wurden. Während einige Genotypen Chlorosestufen von 4...5 (sehr starke Chlorosen und Nekrosen) aufwiesen, blieben andere mit Werten von 1...2 (keine bis sehr leichte Chlorosen) nahezu unbeeinträchtigt. Die Ergebnisse lassen vermuten, daß bereits in F<sub>1</sub>-Nachkommenschaften die Selektion kalktoleranter Genotypen möglich ist. Der Versuch zeigte auch, daß auf umfangreiche Verklonungen des zu screenenden Pflanzenmaterials verzichtet werden kann. Wenigstens eine Wiederholung sollte jedoch zur genaueren Einstufung eines Genotyps vorhanden sein.

Obwohl die Ausprägung des Schadsymptoms „Fe-Mangelchlorose“ ein sehr sicheres Kriterium zur Bewertung der Kalktoleranz bei Rhododendron darstellt, wurde damit begonnen, einzelne physiologische Parameter zu ermitteln. Die genaue Analyse z. B. des Chlorophyllgehalts und des Gehalts an „aktivem“ Fe soll die Basis für eine detaillierte genetische und molekulargenetische Charakterisierung von Teilprozessen der Fe-Aufnahme und -Umsetzung (Fe-Effizienz) ermöglichen.

Um molekulare Marker für Kalktoleranz per se im Rahmen einer QTL-Kartierung zu identifizieren bzw. genspezifische Marker für signifikante Teilparameter der Fe-Effizienz zu kartieren, ist das Vorhandensein einer detaillierten Kopplungskarte unerlässlich. Die Arbeiten zur Erstellung einer ersten Genkarte für Rhododendron wurden daher fortgesetzt.

Die zur Zeit verfügbare Chromosomenkarte für eine aus 68 Individuen bestehende Teilpopulation der Nachkommenschaft RD 1/2 besteht aus etwa 140 DNA-Markern (120 RAPD und 20 RFLP) sowie einem morphologischen Marker (Anthocyanfärbung). Die RAPD-Kartierung erfolgt inzwischen auf der Grundlage von 20mer-Randomprimern, die in Zweier-Kombinationen eingesetzt werden. Der Hauptvorteil dieser Methode liegt in der Kostenersparnis und in einer offenbar etwas höheren technischen Zuverlässigkeit gegenüber den Decamerprimern. Das Ausmaß an Polymorphismen war vergleichbar hoch wie bei Decamerprimern. Für die RFLP-Kartierung wurde eine aus etwa 1000 Klonen bestehende genom-

sche PstI-Bibliothek angelegt und gescreent. Mit der Erstellung von PCR-Markern auf der Grundlage von simple-sequence-repeats (SSR) wurde begonnen.

Abstract:

Rhododendron genotypes showing a different behaviour on bicarbonate-enriched soil were crossed in order to produce progenies suited for a more detailed genetic analysis of the trait lime tolerance. The Rhododendron progeny RD 1/2, which is used for genome mapping, was propagated by an in vitro-culture method. Testing susceptibility to lime induced iron chlorosis in a watering experiment using 20 mM K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, it was found, that the phenotypic variation of the chlorosis trait was low within the clones. The differences between the genotypes were rather high ranging from strongly chlorotic plants to nearly unaffected ones. To select molecular markers for lime tolerance per se within the scope of a QTL mapping and to map gene specific markers for significant parameters of iron efficiency, the availability of a detailed linkage map is essential. Therefore, the efforts to construct a first linkage map for Rhododendron have been continued. The actual map consists of 140 DNA markers (120 RAPD and 20 RFLP) and one morphological trait.

(BAZ-6126)

005

## 2. In vitro Techniken In vitro techniques

### 2.1. Protoplastenkulturen zur Erweiterung der genetischen Variabilität bei Rosen

#### Protoplast cultures as tool to increase genetic variability in *Rosa*

Schum, A., Hofmann, K.

*Protoplastenkulturen bieten gegenüber konventionellen Züchtungsverfahren zusätzliche Möglichkeiten, die genetische Variabilität zu erweitern. Insbesondere zur Erschließung neuer Resistenzquellen soll der Einsatz von somatischen Hybridisierungen und direkter Transformation bei Rosen überprüft werden. Grundvoraussetzung dafür ist die Entwicklung eines Regenerationssystems aus isolierten Protoplasten, welches bei verschiedenen Genotypen anwendbar ist.*

*In comparison with conventional breeding methods protoplast cultures offer additional possibilities to increase the genetic variation. Application of somatic hybridization and direct transformation in roses will be evaluated with special emphasis on possible utilization of new sources of resistance. Prerequisite is the development of a protocol for plant regeneration out of protoplasts, which can be applied to different genotypes.*

Nach einem Screening verschiedener Enzympräparate in unterschiedlicher Kombination und Konzentration konnte mit 1,5 % Cellulysin, 0,5 % Driselase und 0,5 % Macerase eine Enzymlösung erarbeitet werden.

welche die Isolierung von Protoplasten aus Sproßkulturen, Zellsuspensionskulturen und embryogenen Kalluskulturen bei verschiedenen Rosen-Genotypen erlaubt. Die Protoplastenausbeuten sind jedoch bei jedem Versuchsansatz sehr variabel.

Daher wurde der mögliche Einfluß verschiedener Vorkulturbedingungen auf die reproduzierbare Isolierbarkeit vitaler Protoplasten untersucht. Die Kultur des Ausgangsmaterials im Dunkeln sowie auf Nährmedien mit unterschiedlichen Cytokininen ergaben keinerlei Hinweise auf eine Optimierung der Protoplastenfreisetzung.

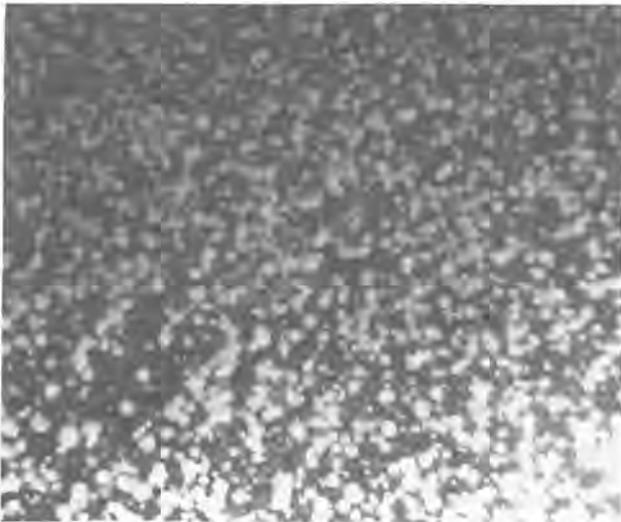


Abb. 1: Mikrokallus aus Rosenprotoplasten

Erste Versuchsergebnisse deuten jedoch darauf hin, daß die Art des Auxins im VorkulturmEDIUM von entscheidender Bedeutung für die Protoplastenausbeute ist. Protoplasten der Genotypen 'Elina', 'Pariser Charme', 'Wuci Fenhong', 'Heckenzauber' und der Unterlage *Rosa laxa* können, eingebettet in Alginatfilmen auf flüssigen Nährmedien, mit 2iP zur Regeneration von Kallus gebracht werden (Abb. 1). Versuche zur Pflanzenregeneration führten dagegen bislang zu keinem Erfolg.

#### Abstract:

Screening of different enzyme preparations showed, that a solution of 1,5 % Cellulysin, 0,5 % Driselase, and 0,5 % Macerace can be routinely used for the isolation of protoplasts out of shoot cultures, cell suspension cultures, and embryogenic callus cultures as well. As protoplast yields proved to be inconsistent, the possible influence of preculture conditions and especially the kind of auxin applied was evaluated. Protoplasts of five rose genotypes regenerated callus in liquid culture media supplemented with 2iP after immobilization in alginate.

(BAZ-6124)

006

## 2.2. Reproduktion von *Cyclamen persicum* in vitro Reproduction of *Cyclamen persicum* in vitro Grunewaldt, J.; Schwenkel, H.G.

*Cyclamen persicum* gehört zu den wirtschaftlich bedeutenden, generativ vermehrten Zierpflanzen. Die noch verbreitete tetraploide Konstitution der Handelssorten und die stark ausgeprägte Inzuchtdepression erfordern einen hohen Züchtungsaufwand bei vergleichsweise langsamer Zunahme der Sortenhomogenität. Da außerdem zunehmend Jungpflanzen anstelle von Samen nachgefragt werden, ist eine grundlegende Überarbeitung der bisher angewendeten Zuchtverfahren unter Einschluß der vegetativen Vermehrung des Züchtungsendproduktes angezeigt.

*Cyclamen persicum* is one of the economically very important pot plants which is propagated generatively. The prevalent tetraploid constitution of varieties, and the pronounced inbreeding depression require a high breeding input with a slow increase of homogeneity. As in addition increasingly more plantlets than seeds are ordered, a general revision of breeding methods applied so far is essential, including the vegetative multiplication of the final breeding product.

Mit dem Ziel, Elternkomponenten während des Probeanbaues potentiell neuer Sorten in vitro zu konservieren und dann rasch auf die benötigte Anzahl von 500 bis 1000 Mutterpflanzen/Vaterpflanzen vegetativ zu vermehren, wurden umfangreiche Versuche angelegt. Als Ergebnis wurde eine für ein breites Genotypenspektrum anwendbare Methode erarbeitet,

die aus wenigen, überschaubaren Teilschritten besteht und in der Züchtungspraxis anwendbar ist.

Als Explantat dienen unbefruchtete Samenanlagen aus Blütenknospen, an denen auf festem Kulturmedium entweder direkt somatische Embryonen oder ein embryogener Kallus induziert werden. Von 30 geprüften Genotypen bildeten 29 somatische Embryonen, und bei einigen der Genotypen gelang die Selektion eines auf festem Medium leicht subkultivierbaren, lockeren Kallus. Dieser regeneriert nach Überführung auf Differenzierungsmedium in großer Anzahl somatische Embryonen und behält diese Potenz über einen mehrjährigen Zeitraum. Die Überprüfung der "Sortenechtheit" und Homogenität von blühenden Pflanzen aus somatischen Embryonen ergab auf großer Pflanzenbasis ein sehr einheitliches positives Ergebnis.

Die Subkultur embryogener Kalli auf festen Medien ist mit einem Aufwand verbunden, der für die vegetative Vermehrung des Züchtungsendproduktes, also die Umstellung des *Cyclamen* auf einen Klonsortentyp, wirtschaftlich nicht darstellbar ist. Als Ansatz zur Reduktion der Herstellungskosten der Jungpflanzen bieten sich die Kultur embryogener Kalli und die Induktion somatischer Embryonen in Flüssigmedium an. Erfahrungen mit anderen Pflanzenarten zeigen, daß diese Methode grundsätz-

lich anwendbar ist, jedoch ein komplexes Gesamtsystem mit einer Reihe zentraler Störfaktoren darstellt. Weitergehende, interne Versuche zur Regeneration von Cyclamen in Flüssigmedium, einschließlich des Einsatzes von Bioreaktoren, werden im Blaue-Liste-Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau in Kühnhausen durchgeführt.

**Abstract:**

A method to store in vitro parental lines during testing of potential new varieties as well as rapid multiplication up to 500 or 1000 mother and father plants was developed. This method can be used in practical cyclamen breeding. If the breeding product itself shall be multiplied, the subculture of regenerative callus lines and the regeneration of plantlets on solid media is too expensive. Therefore experiments are underway to induce somatic embryogenesis in liquid media and bioreactors.

(BAZ-6121)

In Zusammenarbeit mit: Schwenkel, Winkelmann, Erfurt-Kühnhausen

007

**2.3. Steuerung der somatischen Embryogenese in Bioreaktoren: Kinetik von Phytohormonen und Nährstoffen in embryogenen Zellsuspensionskulturen**

**Control of somatic embryogenesis in bioreactors: Kinetics of phytohormones and nutrients in embryogenic cell suspension cultures**

Junge, H.; Preil, W.; Henning, J.; Schneidereit, M.

*Der Einsatz von Bioreaktoren zur Bereitstellung von embryogenen Kulturen für die Mutationsinduktion, Transformation oder die Pflanzenvermehrung stellt eine Weiterentwicklung bisheriger In-vitro-Regenerationssysteme dar. Die Kenntnis des Bedarfes an organischen und anorganischen Mediumkomponenten in den verschiedenen Phasen der Entwicklung somatischer Embryonen könnte zukünftig eine gezielte, automatisierte Versorgung der Kulturen ermöglichen.*

*Analyses of phytohormone kinetics and substrate uptake of cell suspension cultures are essential for an optimum supply with auxins, cytokinins, or main nutrients. Analytical data will lead to improved protocols for somatic embryo production in bioreactors to be used in propagation of elite plants, as transformation units, and for mutation induction.*

Die Untersuchungen zur Aufnahme von Auxinen und Cytokinin aus dem Medium standardisierter Zellsuspensionskulturen wurden am Modell *Euphorbia pulcherrima* fortgesetzt, um Parameter für die gezielte Steuerung embryogener Differenzierungsprozesse zu erarbeiten. Die Versuchsansätze umfaßten jeweils embryogene und nicht-embryogene Zellsuspensionen, die in Erlenmeyerkolben als Schüttelkulturen in mehreren Wiederholungen kultiviert wurden. Während des Versuchsverlaufes erfolgte in regelmäßigen Abständen die Bestimmung der Zellmasse als „packed cell volume“, parallel zur Erfassung der Phytohormone im zellfreien

Medium. Analysiert wurden über HPLC-Techniken die Auxine 4-Chlorophenoxyessigsäure (CPA), 1-Naphthyl-essigsäure (NAA) und das Cytokinin Isopentenyladenin (2iP) in den embryogenen Suspensionen bzw. in den nicht-embryogenen „Kontrollen“ CPA und das Cytokinin 6-Benzylaminopurin (BA). Die Analysen zeigten, daß bereits am dritten Versuchstag eine durchschnittliche Abnahme der Phytohormone um über 90 %, bezogen auf die jeweiligen Startkonzentrationen, zu verzeichnen war. Lediglich von BA wurden nach diesem Zeitraum noch 20 % der Ausgangsmenge wiedergefunden. Am zehnten Tag der Versuchsserien war für alle Hormonkonzentrationen die methodenbedingte Nachweisgrenze von 5 nmol/L je Komponente unterschritten. Diese Ergebnisse legen nahe, bei zukünftigen Experimenten – entgegen den allgemein üblichen ein- bis zweiwöchigen Subkultivierungsintervallen – bereits am dritten Kulturtag mit zusätzlichen Hormongaben in den Verlauf der Embryogenese einzugreifen.

**Abstract:**

Analyses of phytohormones in embryogenic and non-embryogenic cell suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima* revealed that 90 % of the initial concentration of (4-chlorophenoxy) acetic acid, 1-naphthaleneacetic acid, and (2-isopentenyl) adenine were taken up by the cells during the first three days of culture. At the same time 80 % of 6-benzylamino-purine were depleted. This indicates that hormones for controlling embryogenesis have to be supplied in shorter intervals than recommended so far.

(BAZ-6103)

In Zusammenarbeit mit: Dörffling, Univ. Hamburg; Luttmann, FH Hamburg

008

**2.4. Einfluß von Glycoproteiden auf die somatische Embryogenese in Bioreaktoren**  
**Effects of glycoproteids on somatic embryogenesis in bioreactors**

Brandau, K.; Preil, W.

*Durch die Analyse der löslichen Glycoproteide im Kulturmedium embryogener und nicht-embryogener Bioreaktorkulturen von *Euphorbia pulcherrima* sollen regulatorisch wirksame extrazelluläre Glycoproteid-Fractionen erfaßt werden. Nach Isolierung, Reinigung und Zugabe dieser Komponenten in Kulturen unterschiedlicher embryogener Potenz soll ihr Einfluß auf den Verlauf der Embryogenese untersucht werden. Es werden Aufschlüsse über die biotechnologische Nutzbarkeit solcher Substanzen für die Embryogenesesteuerung erwartet.*

*Analyzing the soluble glycoproteids in the culture medium of embryogenic and non-embryogenic bioreactor cultures of *Euphorbia pulcherrima* the regulatory effects of glycoproteid fractions will be determined. After isolation, purification, and addition of these components to *Euphorbia* cultures of different embryogenic potential, their influence on embryogenesis will be studied.*

Zur Untersuchung der gewebespezifischen embryogenen Potenz bei *Euphorbia pulcherrima* wurden Suspensionskulturen aus unterschiedlichen Geweben somatischer Embryonen etabliert. Hierzu wurden Explantate aus dem inneren Hypokotylbereich (Prokambium und Mark) und den peripheren Schichten (Epidermis und primäre Rinde) zur Kallusbildung angeregt. Dabei entwickelten sich zwei deutlich von einander unterscheidbare Kallustypen: Der aus dem äußeren Bereich entstehende rötlich gefärbte Kallus ist zur somatischen Embryogenese befähigt, der aus dem inneren Bereich entstehende grüne dagegen nicht. Die Ausbeute an somatischen Embryonen ist bei den Kalli des äußeren Bereiches höher als bei denen, die nach der bisherigen Standardmethode (ganze Hypokotylsegmente) erzeugt wurden. Der Zusatz von 25 % konditioniertem Medium aus Suspensionskulturen zum Kallusinduktionsmedium erhöht die embryogene Potenz sowohl der Explantate aus dem äußeren Bereich als auch bei den intakten Hypokotylsegmenten. Die Überführung der drei Kallustypen (innerer Bereich, äußerer Bereich, ganze Hypokotylsegmente) in Flüssigkultur ergibt Suspensionskulturen, die sich im Wachstumsverhalten und in ihrer embryogenen Potenz voneinander unterscheiden. Die Kalli aus dem inneren Bereich führen zu sehr gut wüchsigen, hochvitalen, aber nicht-embryogenen Kulturen. Kalli aus dem äußeren Bereich der Hypokotylsegmente gliedern nur wenige Zellen ab, so daß langsam wachsende Suspensionen entstehen, in denen sich nach zwei Wochen embryogene Stadien entwickeln. Suspensionskulturen, die auf intakte Hypokotylsegmente zurückgehen, nehmen dabei eine mittlere Stellung ein. Die Zugabe aus embryogenen Suspensionskulturen isolierter extrazellulärer Concanavalin A-(= Con A)-spezifischer Glycoproteide zum Plattierungsmedium und deren Auswirkung auf die Weiterentwicklung globulärer Embryonen befindet sich in der abschließenden Auswertung.

**Abstract:**

Different embryogenic potential was detected in cell suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima* originating from different tissues of somatic embryos. Cells isolated from central regions of the hypocotyl resulted in fast growing non-embryogenic suspension cultures, whereas cells from epidermal and subepidermal layers developed into slow growing embryogenic cultures. The embryogenic capacity of these cultures could be increased by addition of 25 % of conditioned liquid medium to the standard medium. Investigations on the influence of isolated glycoprotein fractions from suspension cultures on somatic embryo development are still running.

(BAZ-6108)

In Zusammenarbeit mit: Lieberei, Univ. Hamburg

009

**2.5. Steuerung der Organogenese in Suspensionskulturen von *Anthurium scherzerianum***  
**Control of organogenesis in suspension cultures of *Anthurium scherzerianum***

Meier, K.; Preil, W.

*Suspensionskulturen ermöglichen eine leichtere Versorgung der Kulturen mit Nährstoffen und erlauben eine Automatisierung von Teilbereichen der In-vitro-Pflanzenproduktion. Bei der Topfpflanze *Anthurium scherzerianum*, die in Deutschland eine Spitzenposition der In-vitro-Zierpflanzenerzeugung einnimmt, sollen Bioreaktorkulturen etabliert, die Wirkung unterschiedlicher Nährstoffangebote untersucht und die Qualität der regenerierten Pflanzen geprüft werden.*

*The application of suspension culture technique in micropropagation simplifies the supply of nutrients to the cultures and offers possibilities of automation and reduction of production costs. In *Anthurium scherzerianum*, one of the most important ornamental plants propagated in vitro in Germany, bioreactor culture will be established. The influence of various media compounds and feeding intervals will be tested as well as the quality of produced plants.*

In Fortführung der Untersuchungen von 1994 zur Ermittlung des Nährstoffbedarfes von *Anthurium scherzerianum* in Flüssigkultur wurde der Gehalt an Nährsalzen im Standardmedium um etwa 40 % erhöht. Damit wies die Nährlösung eine elektrische Leitfähigkeit von  $4305 \mu\text{s cm}^{-1}$  auf. Die Leitfähigkeit als Maß für den Nährstoffentzug sank innerhalb von 4 Wochen linear auf  $230 \mu\text{s cm}^{-1}$ . Um eine gezielte Zufuhr einzelner Nährstoffe zu ermöglichen und Zufütterungsstrategien im Hinblick auf die automatisierbare Kultur im Bioreaktor zu entwickeln, wurde eine quantitative Analyse der Kationen und Anionen im Medium von „batch“-Kulturen durchgeführt. Sie zeigte, daß Ammonium innerhalb einer Woche und Magnesium in zwei Wochen dem Medium nahezu vollständig entzogen wurden. Der Gehalt an Kalium und Calcium ging, ebenso wie die Werte für die Anionen Phosphat, Sulfat und Nitrat, in vier Wochen linear auf 5 % des Ausgangsniveaus zurück. Der pH-Wert stieg im selben Zeitraum von 4,8 auf 6,3 an. Diese Werte deuteten darauf hin, daß bei konventioneller Kulturführung die schnelle Aufnahme, insbesondere von Ammonium und Magnesium, durch die Pflanzen sich wachstumslimitierend auswirkt.

Bei Kulturführung mit wöchentlichem Mediumwechsel ließ sich ein ähnlicher, linearer Verlauf des Nährstoffentzuges feststellen. Die Erhöhung der real verfügbaren Nährstoffmenge durch den Austausch des „verbrauchten“ Mediums durch frische Nährlösung bewirkte bei Kulturen in Erlenmeyerkolben eine starke Zunahme des Frischgewichtes im Vergleich zu den „batch“-Kulturen. Der berechnete Mehrverbrauch an Nährstoffen betrug bei Kalium und Calcium das Doppelte, bei Phosphat, Sulfat und Nitrat das 2,5-fache, bei Magnesium das 3,5-fache und bei Ammonium das 4-fache.

Die in Erlenmeyerkolben erzielten Ergebnisse konnten im 5 l-Bioreaktor nach Variation der Sauerstoffversorgung und Umdrehungszahl des Rührers reproduziert werden. Nach Rückführung des Pflanzenmaterials auf Festmedium entwickelten sich normal wachsende Sproßkulturen. Durch Modifizierung der Bioreaktoreinbauten soll versucht werden, einheitlich große, organogene Strukturen zu erzeugen, die nach der Plattierung Sproßbüschel in der gewünschten Sortierung ergeben.

**Abstract:**

The increase of nutrient supply to organogenic suspension culture resulted in 2-fold uptake of potassium and calcium, 2.5-fold of phosphate, sulfate and nitrate, 3.5-fold magnesium, and 4-fold of ammonium, respectively. After four weeks of culture an 8-fold increase of plant fresh weight was achieved. Results obtained in Erlenmeyer flasks were reproduced in 5 l bioreactor vessels of Applikon BIOTEK. Shoot clusters derived from suspension cultures were adapted to greenhouse conditions and developed into normal plants.

(BAZ-6127)

In Zusammenarbeit mit: Fa. Applikon BIOTEK GmbH, Knüllwald-Remsfeld 010

**2.6. Entwicklung von Methoden zur Herstellung von homozygotem Ausgangsmaterial und dessen Integration in die Sortenentwicklung von generativ vermehrten Zierpflanzen**

**Development of methods for production of homozygous material and its integration in breeding of generatively propagated ornamental species**

Schum, A.; Lietz, C.

Im Bereich der generativ vermehrten Zierpflanzenarten werden heute von neu entwickelten Sorten neben qualitativer Hochwertigkeit zunehmend auch Krankheitsresistenz sowie größtmögliche Einheitlichkeit gefordert. Voraussetzung für eine zügige Kombination komplexer Merkmale sowie uniformer Nachkommenschaften ist eine weitgehende Homozygotie der Elternkomponenten. Diese durch herkömmliche Inzucht zu erreichen, ist in vielen Fällen nur bedingt möglich.

Modern cultivars of generatively propagated ornamental species have to meet such demands as high quality, disease resistance, and utmost uniformity. Prerequisite for an efficient mode of combination of complex traits as well as for obtaining uniform progenies is a high degree of homozygosity within parental lines. The latter can rarely be reached by conventional inbreeding.

Am Beispiel von *Begonia x semperflorens-cultorum* sollen Methoden zur Regeneration von Pflanzen aus gametophytischem Gewebe und deren anschließende Aufregulierung entwickelt werden. Die Übertragbarkeit

des zu erarbeitenden Verfahrens auf *Begonia x tuberhybrida* ist zu überprüfen. Eine Korrelation äußerer Blütenmerkmale mit den frühen Mikrosporentwicklungsstadien erwies sich bei Begonien als nicht gegeben. Insbesondere ist das Auftreten von Tetradenstadien sehr variabel. Mikrosporenkulturen wurden daher zunächst zugunsten der anderen Haploidentechniken zurückgestellt.

Bei acht Genotypen von *B. semperflorens* konnten globuläre Strukturen aus dem Inneren der Theken regeneriert werden. Nach Durchlaufen einer Wurzelphase regenerieren diese auf TDZ-haltigen Nährmedien Sprosse. Die Kultur von Placentaexplantaten mit aufsitzenden Samenanlagen führte bei verschiedenen *B. semperflorens*-Genotypen auf diversen Nährmedien zum stets gleichen Entwicklungsmuster: Nach anfänglicher Weiterentwicklung der Samenanlagen stagnierte diese bei starkem Wachstum des Funiculus. Anschließend kam es, ausgehend von den Placenten, zu einer fortschreitenden Verbräunung, die schließlich zum Absterben der Explantate führte. Bei Isolierung der Samenanlagen, eine und zwei Wochen nach der Präparation der Placenten, entwickelten sich im Inneren kugelförmige Gebilde, die schnell weiterwuchsen, aus den Integumenten herausplatzen und Regenerate ausbildeten (Abb. 1).



Abb. 1: Regeneration aus dem Inneren einer isolierten Samenanlage von *Begonia semperflorens-cultorum*

Nach Überführung der Regenerate auf TDZ-haltige Nährmedien bildeten sich zunächst Wurzeln. Zur Zeit treten erste regenerierende Sprosse auf. Das Ploidieniveau der regenerierten Sprosse ist noch zu überprüfen.

**Abstract:**

Methods for regeneration of plants out of gametophytic tissue are to be developed for *Begonia x semperflorens-cultorum* as well as for *Begonia x tuberhybrida*. Globular structures were regenerated from the inside of anthers as well as from ovules of several genotypes. These developed into roots, which started to give rise to shoots on culture media supplemented with thidiazuron. Ploidy levels of regenerants still have to be ascertained.

In Zusammenarbeit mit: Fa. E. Benary, Hann.-Münden 011

### 3. Resistenz Resistance

#### 3.1. Untersuchungen zur Resistenz von Rosenunterlagen gegen Bodenmüdigkeit, *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* und *Diplocarpon rosae* Investigations on resistance of rose rootstocks to soil sickness, *Sphaerotheca pannosa* var. *rosae* and *Diplocarpon rosae*

Dohm, A.; Drewes-Alvarez, R.

Die Produktion von Rosen erfordert wegen Anfälligkeit der verwendeten Veredlungsunterlagen gegen Krankheiten und Schädlinge zusätzliche Aufwendungen; gegenüber der Bodenmüdigkeit sind Gegenmaßnahmen ökologisch und wirtschaftlich nicht vertretbar. Allein genetische Resistenz der Unterlagengenotypen sichert langfristig die Rosenproduktion.

As the rootstocks for roses are susceptible to pests and diseases the production of roses requires additional expenditure; against soil sickness counteractions are not acceptable due to ecological and economical reasons. Only the genetic resistance of the rootstock genotypes ensures the rose production on a long term.

Üblicherweise wird in Deutschland auf drei Unterlagen veredelt: *Rosa canina* 'Inermis', *R. canina* 'Pfänder' und *R. corymbifera* 'Laxa'. Ob andere Rosenarten bzw. -varietäten widerstandsfähiger gegen den Faktorenkomplex der Nachbaustörungen sind, ist nicht bekannt. Aus diesem Grund sollte ein breites Sortiment verschiedener Rosenarten geprüft werden. Hierfür wurde im Mai 1993 ein Freilandversuch auf einem Feld mit langjähriger Rosenkultur angelegt. Neben verschiedenen *R. multiflora*-Genotypen wurden weitere Rosenunterlagen und Wildrosen, die von einigen Baumschulen zur Verfügung gestellt worden waren, aufgepflanzt. Die *R. multiflora*-Klone waren bereits auf Mehltauresistenz und Stachellosigkeit selektiert worden. Insgesamt wurden 49 verschiedene Klone bzw. Sämlingsnachkommenschaften in einer Gitteranlage mit jeweils drei Wiederholungen getestet. Am Ende der Vegetationsperioden 1993 und 1994 erfolgte die Bonitur der Wachstumsparameter „Triebanzahl“ und „Trieblänge“. Alle *R. multiflora*-Klone zeigten auf den bodenmüden Flächen schwächeres Wachstum als auf den chemisch entseuchten. Die statistische Auswertung der Boniturdaten 1994 ergab jedoch, daß einige *R. multiflora*-Genotypen sich hinsichtlich Triebzahl und -länge auf den nicht entseuchten Flächen nicht signifikant von den Kontrollflächen unterschieden. Keinerlei Beeinträchtigung des Wachstums auf den bodenmüden Flächen war bei je einer Sämlingsnachkommenschaft von *R. canina* und *R. arvensis* sowie zwei Sämlingsnachkommenschaften von *R. rubiginosa* festzustellen. Somit konnte innerhalb der Arten, zu denen die wirtschaftlich wichtigsten Unterlagen gehören, Widerstandsfähigkeit gegenüber Bodenmüdigkeit nachgewiesen werden. Die *R. canina*- und *R. rubiginosa*-Genotypen sind bestachelt; in Kreuzungen mit *R. canina* 'Inermis', die von den kom-

merziell genutzten Rosenunterlagen die geringste Empfindlichkeit gegenüber Nachbau aufweist, soll auf Stachellose, gegen Bodenmüdigkeit resistente, Nachkommen selektiert werden.

Abstract:

As so far nothing is known about the tolerance of different rose varieties against soil sickness, different genotypes of *Rosa multiflora*, *R. canina*, *R. rubiginosa* and further wild species were tested in a field trial in 1993 and 1994. At the end of the growing season in 1993 and 1994 numbers of newly formed shoots and shoot lengths were recorded. We found large variations between the tested genotypes concerning their reaction against soil sickness. One seedling progeny each of *R. canina* and of *R. arvensis* and two seedling progenies of *R. rubiginosa* showed no growth reduction after to cultivation on non decontaminated area compared to control plants.

(BAZ-6120)

In Zusammenarbeit mit: Fa. W. Kordes' Söhne Rosenschulen, Klein Offenseth; Lösing, Versuchs- u. Beratungsring Baumschulen e.V., Pinneberg, Schleswig-Holstein

012

#### 3.2. Ermittlung von Resistenzträgern bei Rosenarten gegen tierische Schaderreger und Übertragung der Resistenzen in Sortenzuchtmaterial Selection of sources for insect resistance in rose species and transfer of resistance to cultivars Sauer, A.

Insekten schädigen Rosen erheblich und begrenzen, zusammen mit dem stark reduzierten Einsatz von Insektiziden, die Wirtschaftlichkeit des Rosenanbaues. Nur eine genetisch bedingte Resistenz kann hier einen weiteren Rückgang des Anbaues von Rosen bewirken.

Different insects cause severe damage in roses and limit, together with a drastic reduction in insecticide application, the economic prerequisites for rose cultivation. Only a genetically controlled resistance may stop a further delay in rose cultivation.

Freilandbeobachtungen an den Wildrosen in Ahrensburg zeigten, daß sich, wie 1994, infolge des kalten und nassen Frühjahrs die Schaderregerpopulationen zu spät entwickelten, um bei den Bonituren eine Differentialdiagnose zu ermöglichen. Rosenblattläuse, *Macrosiphum rosae*, wurden in geringem Umfang an fast allen jungen Trieben gefunden. Bis Mitte Juli waren sie auf ihren Sommerwirt übergewechselt. Schäden durch die Rosenzikade, *Typhlocyba rosae*, waren so gering, daß sie zu vernachlässigen waren. Blattrollwespe (*Blennocampa pusilla*) und Rosenwickler (*Cacoecia forskalearia*) wurden nicht gefunden.

Der Schwerpunkt der Arbeiten lag 1995 in der Erfassung der Besiedlung der Rosen durch Thripse. *Frankliniella occidentalis*, der Kalifornische Blüenthrips, verursacht im Unterglasanbau an Rosenblüten schwere Schäden, die zu erheblichen Ertragseinbußen führen. Wegen der zu-

nehmenden Resistenz dieses polyphagen Schaderregers gegen Insektizide muß nach Resistenzträgern bei Rosen gesucht werden. Für Wildrosen spielen Blüenthripse keine Rolle. Wildrosen blühen, bis auf wenige Ausnahmen, im Mai und Juni, die Thripspopulationen erreichen unter unseren Klimabedingungen das schädigende Maximum ihrer Entwicklung im August.

Ausgehend von den Beobachtungen 1994, bei denen im Freiland im Intensivanbau an einem begrenzten Sortiment von Rosensorten die Thripsbesiedlung erfaßt wurde, konnten 1995 in Ahrensburg sowohl im Freiland als auch im Gewächshaus Rosensorten aufgepflanzt werden. Aus der Literatur wird berichtet, daß sich viele Thysanopteren, auch *F. occidentalis*, nach Duft und Farbe ihrer Wirtspflanzen orientieren. Die Sorten wurden nach diesen Kriterien ausgewählt, wobei vier der Sorten sowohl im Freiland als auch im Gewächshaus gepflanzt wurden. Die Anordnung der Pflanzen erfolgte in beiden Versuchen mit fünf Wiederholungen als lateinisches Rechteck. Damit wurde eine zufällige Besiedlung erreicht und standortbedingte Präferenzen weitgehend vermieden. Auf Grund der letztjährigen Beobachtungen im Freiland sollten 1995 zunächst grundlegende Beobachtungen über die Besiedlung mit Thysanopteren im Gewächshaus erfolgen. Es wurden keine Schaderreger eingebracht und keine Insektizide angewendet. Eine starke Blattlausvermehrung wurde jedoch durch den Einsatz einer Schlupfwespe, *Aphelinus abdominalis*, und eine im Frühjahr zeitig beginnende Vermehrung der Roten Spinne durch die Raubmilbe, *Phytoseiulus persimilis*, begrenzt. Das Gewächshaus war, wie unter Praxisbedingungen üblich, offen, so daß sich Schaderreger und auch Nützlinge einstellen konnten.

Zur Differenzierung der Rosensorten bezüglich Befallsunterschieden wurden Boniturschemata entwickelt. Blüten- und Blattmerkmale beschreiben die Sorten, Bonituren des Blattlaus- und Thripsbefalls können Hinweise auf Sortenunterschiede geben. Ebenso wie diese Merkmale wurden in wöchentlichen Abständen Spinnmilben-, Zikaden- und Mehltaubefall erfaßt.

Die Identifizierung der Thysanopteren, die in den Blüten gefunden wurden, zeigte, daß im Gewächshaus das gleiche Artenspektrum gefunden wird wie im Freiland. Im Gewächshaus wurden in 720 Blüten bei 5550 Thripsen fünf Arten in größerer Häufigkeit gefunden: *Thrips tabaci* (64 %), *Frankliniella occidentalis* (13 %), *Thrips fuscipennis* (10 %), *Frankliniella intonsa* (9 %), *Thrips major* (4 %). Es gibt deutliche Befallsunterschiede, die aber nicht auf die Besiedlung mit *F. occidentalis* zurückzuführen sind. *T. tabaci* zeigte bei allen Sorten die höchste Besiedlung und verursachte bei einer zartrosa, nicht duftenden Sorte die größten Schäden. Eine andere, zartrosafarbene, stark duftende Sorte wurde sowohl von *F. occidentalis* wie auch von *F. intonsa*, *T. fuscipennis* und *T. tabaci* besiedelt. Besonders auffällig war die hohe Populationsdichte von *T. tabaci*, der auch an anderen Unterglaskulturen hohe Schäden verursacht.

Die Ergebnisse zeigen, daß es nicht genügt, nur gegen *F. occidentalis*, sondern auch gegen verschiedene andere

Thripsarten Resistenzträger zu finden. Hierzu werden Wildrosensorten einzubeziehen sein. Kreuzungen von anfälligen und geringer geschädigten Sorten oder Wildarten können es ermöglichen, in den Nachkommenschaften die Mechanismen der Vererbung der Resistenz zu erfassen.

Abstract:

Not only *Frankliniella occidentalis* (frequency 13 %) was damaging flowers of 10 rose cultivars in the greenhouse, but also *Thrips tabaci* (64 %), *Thrips fuscipennis* (10 %), *Frankliniella intonsa* (9 %), and *Thrips major* (4 %). Rose species could be sources for thrips resistance and this should be proved. Crossings with cultivars and selection of resistant types in the offspring should give knowledge about mechanisms of inheritance.

(BAZ-6117)

In Zusammenarbeit mit: Fa. W. Kordes' Söhne Rosenschulen, Klein Offenseth

013

### 3.3. Grundlagen zur Züchtung auf Mehltauresistenz (*Sphaerotheca pannosa*) bei Rosen

#### Basic research on breeding roses for mildew resistance (*Sphaerotheca pannosa*)

Krüger, J.; Gasché, B.; Stielau, E.

*Der Befall durch Rosenmehltau ist sowohl für Rosensorten als auch Veredlungsunterlagen von größter wirtschaftlicher Bedeutung. Die Reduzierung des Pflanzenschutzmitteleinsatzes führt dazu, daß genetisch resistente Genotypen entwickelt werden müssen, um den Anbau von Rosen weiterhin zu ermöglichen.*

*Rose mildew is of main economic importance for rose cultivars and root stocks, as well. The reduction of chemical protection must result in the development of genetically resistant genotypes. Only these will guarantee further rose growing.*

An abgetrennten Rosenblättern wurde untersucht, inwieweit eine Testung auf Anfälligkeit für Mehltau im Labor möglich ist und ob die Ergebnisse mit dem Befall im Freiland bzw. Gewächshaus korrelieren. Hierzu wurden junge Blätter mittels Aufsprühen einer Sporensuspension oder durch Bestäuben mit Sporen in Petrischalen inokuliert und anschließend im Klimaschrank bei 20 °C und 12 Stunden Licht aufgestellt (Abb. 1).

Bonituren erfolgten jeweils nach 1 und 2 Wochen. Blätter von verschiedenen Rosenarten und einigen Rosensorten aus dem Freiland sowie 1995 ausgesäte Nachkommen aus einer Kreuzung von zwei für Mehltau nicht oder nur gering anfälligen Eltern aus dem Gewächshaus wurden für diese Versuche verwendet. Bei den Gewächshauspflanzen zeigte sich in zwei Tests im Labor (Mai und August/September) dieselbe Reaktion der einzelnen Pflanzen, während Freilandpflanzen im Labortest nicht immer einheitlich reagierten. Nachkommen, die bis zum Oktober im Gewächshaus ohne Mehltaubefall geblieben waren, hatten auch auf den abgetrennten Blättern im Labor negativ reagiert. Ebenfalls konnte an einigen Ro-



Abb. 1: Kultur von Rosenmehltau (*Sphaerotheca pannosa*) auf abgetrennten Rosenblättern

senarten, die in der Literatur als resistent bezeichnet werden (z. B. *R. hugonis*, *R. kordesii*, *R. rugosa*), kein Mehltau auf den abgetrennten Blättern gefunden werden, während bei solchen Arten mit unterschiedlichen Angaben zur Resistenz sich auch im Labortest ein unterschiedliches Verhalten abzeichnete. Die Versuche werden fortgesetzt. Die Pflanzen aus dem Gewächshaus sollen ins Freiland gebracht werden, um dort ihre Reaktion gegenüber dem Mehltau weiterhin zu beobachten.

#### Abstract:

Detached rose leaves were tested in the laboratory for their reaction to powdery mildew after artificial inoculation. While detached leaves of rose seedlings grown in the greenhouse showed an equal reaction in two laboratory tests, detached leaves of rose species and cultivars grown in the field had not always the same reaction in the two or three tests carried out. Healthy plants of the seedlings were without mildew in the laboratory and rose species like *Rosa hugonis*, *R. kordesii*, and *R. rugosa*, known from literature to be resistant, too.

(BAZ-6115)

014

### 3.4. Induktion von Resistenzen gegenüber pilzlichen Schaderregern in Rosen durch Transformation Induction of resistances against fungal diseases in roses via transformation

Dohm, A.; Nehring, K.; Rockstroh, K.

In der Rosenzüchtung gewinnen aufgrund eines verstärkten Umweltbewusstseins der Verbraucher und einer veränderten Pflanzenschutzgesetzgebung Krankheitsresistenzen als Zuchtziele immer größere Bedeutung. Neben Insekten wie Thripsen und Blattläusen sind die pilzlichen Krankheiten, Sternrußtau und Mehltau, besonders wichtig. Die Einkreuzung von Resistenzgenen aus Wildarten wird behindert durch die unterschiedlichen Ploidiestufen verschiedener Rosenarten und die mögliche Kopplung

der angestrebten Resistenzen mit unerwünschten Merkmalen. Eine Alternative stellt das gezielte Einbringen von Resistenzgenen durch Transformation dar. Dieses Verfahren bietet außerdem den Vorteil, daß rassenspezifische Resistenzgene aus anderen Pflanzenarten oder Organismen eingebracht werden können, die vermutlich zu dauerhaften Resistenzen führen.

Depending on an enhancing ecological awareness and a changing plant protection legislation, in rose breeding disease resistances are becoming more and more importance. Besides insects like thrips and aphids the fungal diseases blackspot and powdery mildew are of main economical importance. The integration of resistance genes by crosses with wild species is complicated due to varying ploidy levels in rose species and a possible linkage of resistance genes with

undesirable traits. Alternatively, resistance genes can be transferred via transformation. One advantage of this strategy is the possibility to include non race specific resistance genes from other plant species or even from other organisms. These genes are expected to ensure long term resistances.

Als potentielle, nicht rassenspezifische, Resistenzgene gegen Sternrußtau und Mehltau stehen verschiedene Gene für Ribosomen inhibierende Proteine aus Gerste und Chitinasen aus *Serratia marcescens* zur Verfügung.

Es konnte gezeigt werden, daß diese Genprodukte das Wachstum von *Marssonina rosae* in vitro hemmen. Die Arbeiten zur Transformation werden an verschiedenen Kultursorten und Wildarten durchgeführt, deren Reaktion gegenüber *M. rosae*, dem Erreger des Sternrußtaus, bereits charakterisiert wurde und die bereits als *In-vitro*-Kulturen etabliert sind. Für diese Rosengenotypen wurden Protokolle für die *In-vitro*-Regeneration von Blattexplantaten über Adventivproßbildung und über somatische Embryogenese entwickelt (Abb. 1). Die Regenerationsraten betragen etwa 30 %. Regenerierte Pflanzen wurden in Erde überführt, um sie hinsichtlich möglicher somaklonaler Variation zu überprüfen. Darüber hinaus konnten embryogene Kalluskulturen etabliert werden, die zur Zeit in Suspensionen überführt werden.

Als Transformationsverfahren werden sowohl der durch Agrobakterien vermittelte Gentransfer als auch das „particle bombardment“ verfolgt. Die Transformation mit Hilfe von Agrobakterien wurde zunächst an Blattexplantaten optimiert. An den ersten Explantaten, die erfolgreich mit dem GUS-Gen und dem nptII-Gen transformiert wurden, setzt zur Zeit die Regeneration von somatischen Embryonen ein. Die Experimente sollen mit den oben genannten Resistenzgenen unter Kontrolle des 35S-Promotors fortgesetzt werden. Weiterhin sind Transformationsversuche an embryogenen Kalli geplant. Erste Experimente zum „particle bombardment“ wurden an

embryogenen Kalluskulturen sowie an isolierten somatischen Embryonen durchgeführt. Die Transformationsbedingungen werden zur Zeit mit dem GUS-Gen als Marker optimiert.



Abb. 1: Somatische Embryogenese und Pflanzenregeneration bei Rosen

**Abstract:**

It could be shown that ribosome inhibiting proteins and chitinase inhibited the growth of the black spot inducing pathogen *Marssonina rosae* in vitro. Transformation experiments using the respective genes are performed on different rose cultivars and wild species for which the reaction against *M. rosae* has already been characterized. First protocols for *in vitro* regeneration via adventitious shoot formation and somatic embryogenesis out of leaf explants were developed. Regeneration frequency is about 30 %. Furtheron embryogenic callus cultures have been established. For transformation two strategies are followed: *Agrobacterium* mediated gene transfer as well as particle bombardment. Up to now a lot of work on optimization of transformation conditions has been done. The first successfully transformed leaf explants with GUS and nptII genes via *Agrobacterium* mediated gene transfer are actual forming somatic embryos now.

In Zusammenarbeit mit: Fa. W. Kordes' Söhne Rosenschulen, Klein Offenseth; Fa. Rosen Tantau, Uetersen; FA Noacks' Rosen, Gütersloh; Fa. K. Hetzel, Oberderdingen

015

**3.5. Untersuchungen zur Resistenz gegenüber *Cylindrocladium scoparium* bei *Erica gracilis***  
**Investigations on resistance to *Cylindrocladium scoparium* in *Erica gracilis***

Krüger, J.; Preil, W.; Stielau, E.; Gasché, B.; Ebbinghaus, R.

*Cylindrocladium scoparium* gehört zu den wirtschaftlich bedeutenden Krankheitserregern von *Erica gracilis*. Eine planmäßige Resistenzzüchtung fehlt bisher. Dies beruht

darauf, daß die Pathogenese des Pilzes unzureichend untersucht ist und erst seit kurzem *Erica gracilis*-Wildformen aus Südafrika zur gezielten Erweiterung der genetischen Variation zur Verfügung stehen. Da damit zu rechnen ist, daß zukünftig die Zahl der zugelassenen, wirksamen Pflanzenschutzpräparate abnehmen wird, ist es notwendig, die Grundlagen für eine Resistenzzüchtung zu erarbeiten.

*Cylindrocladium scoparium* causes one of the economically most important diseases of *Erica gracilis*. Resistance breeding was neglected in past since pathogenesis of the fungus is not intensively investigated, and only recently *Erica gracilis* wild types are available from South Africa. A general reduction of chemical plant protection emphasizes the necessity to look for the basis of resistance to this disease.

Verklonte Erikenpflanzen unterschiedlichen Ursprungs wurden mit *Cylindrocladium scoparium* zweimal (November 1994 und Februar 1995) künstlich inokuliert und der Befall ein Jahr lang bonitiert. Während anfangs einige

Pflanzen erkrankten und abstarben, wurden während der Wintermonate, vor allem bedingt durch niedrige Temperaturen im Gewächshaus, so gut wie keine Ausfälle registriert. Mit Beginn höherer Temperaturen kam es zu weiteren Erkrankungen. Nach ca. 6 Monaten waren die ersten Klone vollständig abgestorben. Ein Jahr nach der Inokulation sind nur noch wenige Pflanzen ohne Befall. Von den 14 Pflanzen eines Klons aus einer Kreuzung von *Erica coccinea* mit 'Glaser's Rote' sind noch 13 Pflanzen gesund. Auch von zwei Klonen aus Kreuzungen von *E. gracilis* mit *E. subdivaricata* leben noch einzelne Pflanzen. Aus Stichproben von 12 Klonen, bestehend aus insgesamt 300 Pflanzen von *E. gracilis* oder Nachkommen aus Kreuzungen zwischen verschiedenen *E. gracilis*-Genotypen, existiert noch eine befallsfreie Pflanze. Resistenz gegen *C. scoparium* scheint daher in dem bisher untersuchten *E. gracilis*-Material nicht vorhanden zu sein, während andere *Erica*-Arten eine gewisse Widerstandsfähigkeit gegen diese Krankheit offenbar besitzen.

**Abstract:**

Genetically different clones of *Erica gracilis* were artificially inoculated with *Cylindrocladium scoparium*. Six months after inoculation all plants of some clones were dead. After one year 13 plants out of 14 from a clone of *E. coccinea* x 'Glaser's Rote' were healthy while in 2 clones from crossings with *E. subdivaricata* few plants were still alive. Out of 12 clones of *E. gracilis* and crosses between different *E. gracilis* genotypes only one plant from 300 is without incidence. Resistance to *C. scoparium* does not exist in *E. gracilis* tested, but seems to be present in other *Erica* species.

(BAZ-6106)

In Zusammenarbeit mit: Sondergruppe AZERCA des Zentralverbandes Gartenbau (ZVG)

016

### 3.6. Untersuchungen zur Schorffresistenz

#### Investigations on scab resistance

Schmidt, H.; Dunemann, F.; Radies, M.; Bräcker, G.

*Die am IZZ entwickelten RAPD-Marker für das Schorfresistenzgen  $V_f$  sollten an spaltenden Nachkommen (NKS) getestet werden. Sie wurden bei Sämlingen in der Saatkiste mit den Ergebnissen nach künstlicher Infektion sowie an einer NKS im Freiland mit der Feldbonitierung auf Schorf verglichen*

*RAPD markers developed at the IZZ for the scab resistance gene  $V_f$  were tested in segregating progenies. Data of artificial inoculation of seedlings in the seed box were compared to one marker as well as field screening data of another progeny to two markers.*

In den Jahren 1992 bis 1994 wurden Kreuzungen durchgeführt zur Kombination von Schorffresistenz aus *Malus floribunda* mit Mehltaresistenz aus *Malus zumi* und *Malus robusta* und Krebsfestigkeit aus Klon 40. Die letzten Sämlinge wurden 1995 im Gewächshaus angezogen (insgesamt ca. 2000). Parallel zur Inokulation der Sämlinge mit Schorfsporen in der Saatkiste wurden im Frühjahr 1995 von einem Teil der Nachkommen Proben entnommen und im Labor auf Vorhandensein bzw. Fehlen von mit Schorf- oder Mehltaresistenz gekoppelten RAPD-Markern untersucht. Hinsichtlich der Schorffresistenz zeigen die bisherigen Ergebnisse eine gute Übereinstimmung zwischen der Anfälligkeit/Resistenz nach Inokulation und dem Vorhandensein/Fehlen molekularer Marker. Da Apfelsämlinge im ersten Lebensjahr eine stärkere Anfälligkeit gegenüber Mehltau zeigen als später im Feld, kann ein Vergleich der Mehltauanfälligkeit mit den RAPD-Markern erst im Sommer 1996 erfolgen. Im Rahmen des 'European Apple Genome Mapping Project' wurden mehrjährige Feldbonitierungen auf Krankheiten und Schädlinge sowie Fruchtqualitätseigenschaften durchgeführt. Insbesondere bei einer aus Wageningen stammenden Population, J = 'Prima' x 'Fiesta', wurden von den übrigen Stationen abweichende Schorfdaten ermittelt. Parallel dazu wurden die Pflanzen mit zwei Markern, die mit dem Resistenzgen  $V_f$  gekoppelt sind, kartiert. Die beiden Marker, die mit etwa 8 bzw. 10 cM an den  $V_f$ -Locus gekoppelt sind, ergaben zu 96 % identische Ergebnisse. Bei 36 % der im Feld als anfällig bonitierten Pflanzen fehlten die beiden Marker, 28 % der als resistent beurteilten Bäume besaßen die Marker. Das ergibt eine Übereinstimmung von nur 63 %. Diese Werte sind wesentlich ungünstiger als die an den jungen Sämlingen in der Saatkiste ermittelten. Auffällig ist, daß 29 % der anfälligen Pflanzen die Marker hatten, sie aber bei nur 4 % der Resistenten fehlten. Die Feldbonitierungen stimmten zwischen beiden Jahren ziemlich gut überein.

Es muß davon ausgegangen werden, daß die abweichenden Ergebnisse mit dem Auftreten der Schorfphase 6 (siehe Jahresbericht 1993) auf den Ahrensburger Feldern in Zusammenhang steht. Hierzu werden spezielle Untersuchungen begonnen.

#### Abstract:

1992 to 1994 apple seedlings are designed to combine resistance against scab, mildew, and canker. Parallel to scab inoculations in the greenhouse part of the progenies is screened for presence or absence of a RAPD marker. First RAPD results are in good coincidence with the inoculation data.

In the 'Apple Genome Mapping Project' field populations were screened for a series of characters. In J progeny only 28 % of trees were resistant and carried two RAPD scab markers, respectively were susceptible without these markers (36 %). Coincidence is much less compared to the seedling data in the seed box.

In Zusammenarbeit mit: Tenzer, ETH Zürich, Schweiz; Benaouf, INRA, Frankreich

017

## 4. Erstellung von Basismaterial Development of basic material

### 4.1. Grundlagen der Züchtung neuer Zierpflanzen

#### Principles of breeding new ornamental plants

Preil, W.; Ebbinghaus, R.; Seehaus, H.; Marschke, J.; Timmann, E.-M.

*Die Einführung neuer Zierpflanzenarten in die gartenbauliche Produktion setzt die züchterische Bearbeitung von Wildformen voraus. Es wird angestrebt, insbesondere bei Vertretern der Gattungen *Alyogyne*, *Clerodendrum*, *Ruellia* und *Tibouchina* Grundlagen für die Züchtung von Kompaktformen zu erarbeiten, die den Einsatz von Wachstumsregulatoren in der Zierpflanzenproduktion einschränken. Darüber hinaus ist es das Ziel des Vorhabens, Ausgangsmaterial für die Sortenentwicklung bereitzustellen.*

*New ornamentals that shall be introduced in horticultural plant production have to be improved by means of breeding. It is the aim of the project to investigate principles of breeding methodology in the genera *Alyogyne*, *Clerodendrum*, *Ruellia*, and *Tibouchina* for selecting dwarf types that can be cultivated without application of growth regulators in commercial production.*

Im Berichtszeitraum wurden die Arten *Tibouchina urvilleana* und *Ruellia macrantha* schwerpunktmäßig bearbeitet.

*Tibouchina urvilleana*: Da das zur Verfügung stehende stark wachsende tetraploide Material ( $2n = 4x = 56$ ) hochgradig steril ist, wird durch Anwendung der *in vitro* Mutagenese versucht, Kompaktformen mit kurzen Internodien zu induzieren. Die bereits 1994 beobachtete hohe Strahlenresistenz des Materials macht eine mehrfache

Röntgenbestrahlung erforderlich, wobei in Abständen von 4...6 Monaten eine fraktionierte Strahlendosis von jeweils  $3 \times 15$  Gy appliziert wird. So *in vitro* behandelte Pflanzen gelangten nach der dritten und vierten Bestrahlung in das Gewächshaus, wobei eine Hälfte des bestrahlten Materials unter In-vitro-Kulturbedingungen verblieb und für die Fortführung der Bestrahlungsversuche genutzt werden soll. Zur Auswertung standen bisher 3100 Pflanzen nach der dritten und 6200 Pflanzen nach der vierten Bestrahlung zur Verfügung. Da aus versuchs-technischen Gründen eine rasche Reduktion der Populationen im Gewächshaus notwendig ist, werden alle Pflanzen, deren Internodien im Vergleich zur Kontrolle keine Verkürzungen aufweisen, in möglichst frühen Entwicklungsstadien verworfen. Die abschließende Beurteilung der Restpopulationen erfolgt 1996 nach Beginn der Blüte.

*Ruellia macrantha*: Chromosomeninstabilitäten im Bereich von  $2n = 2x = 34$  bis  $2n = 3x = 51$ , die zu aneuploiden Pflanzen führen, erschweren den Aufbau uniformer Klone nach vorausgegangener Selektion in Kreuzungsnachkommenschaften. Hinzu kommen bei dieser neuen Zierpflanze nicht hinreichend untersuchte photoperiodische Reaktionen und Temperatureinflüsse während der Blühinduktion. Die Auswahl von geeigneten Elternklonen für Kreuzungen setzt daher eine Prüfung der physiologischen Eigenschaften voraus, die im Zusammenhang mit der Blütenbildung stehen. In Kooperation mit der Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau, Kassel, und mehreren Praxisbetrieben wurde begonnen, *in vitro* vermehrte Eliteklone in zeitlicher Staffelung zu kultivieren, um so die Reaktion auf jahreszeitliche Änderungen der Gewächshausbedingungen zu erfassen und Anbauempfehlungen ableiten zu können. Acht Klone, die aus dem bisherigen Kreuzungsprogramm hervorgegangen sind, befinden sich in der Prüfung und dienen als Eltern für diallele Kreuzungen.

#### Abstract:

In 1995 experiments were focussed on *Tibouchina urvilleana* and *Ruellia macrantha*. Since available tetraploid *T. urvilleana* genotypes are sterile, *in vitro* cultures were treated with x-rays in intervals of four to six months in order to induce dwarf mutants. For mutant screening some 3100 plants irradiated three times and 6200 plants irradiated four times were transferred to the greenhouse.

In elite plants of *R. macrantha* chromosome instability ( $2n = 2x = 35$  to  $2n = 3x = 51$ ) were found resulting in non-uniform clonal progenies. Selected plants to be used as parents for further crossings will be micropropagated and tested for photoperiodical reactions and response to different temperature regimes.

(BAZ-6107)

In Zusammenarbeit mit: Arbeitskreis

„Neue Zierpflanzen“ der Gartenbauversuchsanstalten 018

#### 4.2. Entwicklung von kalktoleranten Genotypen bei *Rhododendron*, *Kalmia*, *Pieris* und *Enkianthus* Development of lime-tolerant genotypes in *Rhododendron*, *Kalmia*, *Pieris*, and *Enkianthus* Chaanin, A.; Preil, W.

Hohe Kalk- bzw. Bicarbonatgehalte im Boden hemmen das Wachstum bei vielen wirtschaftlich wichtigen Vertretern der Familie der Ericaceae. Kalktolerante Genotypen könnten die Anbauprobleme in der Baumschulpraxis und bei dem Endverbraucher erheblich verringern. Zur Entwicklung kalktoleranter Genotypen bei *Rhododendron*, *Kalmia*, *Pieris* und *Enkianthus* sollen die Variationsbreite des Merkmals "Kalktoleranz" unter dem Einfluß von Biocarbonat-Stress untersucht und Elitepflanzen ausgelesen werden. Es wird erwartet, daß die Verwendung kalktoleranter Formen zur Reduzierung des Torfverbrauches und zur Schonung der Naturressourcen beitragen wird.

High content of lime or bicarbonate in the soil inhibits plant growth in many economically important members of Ericaceae family. Difficulties in cultivation could be reduced by breeding lime tolerant genotypes that are suitable for nurseries and private gardens. The aim of the project is to investigate the variability of trait „lime tolerance“ under bicarbonate stress in *Rhododendron*, *Kalmia*, *Pieris*, and *Enkianthus*. The use of selected lime tolerant genotypes will reduce consumption of peat in horticulture and save natural resources.

Sämlinge von ca. 200 *Rhododendron*-Arten verschiedener Provenienzen wurden auf  $\text{HCO}_3^-$ -Toleranz durch direktes Aussäen auf Torf-/Nadelerde-Substrat mit 1, 5 oder 10 g  $\text{CaCO}_3/\text{l}$  (pH-Werte jeweils: 4,2; 6,4; 7,1) geprüft. Das Kulturverfahren stellte sicher, daß die Sämlinge während der Testung einem gleichbleibenden



Abb. 1: Selektierte kalktolerante *Rhododendron micranthum* auf Kultursubstraten mit 1 g/l  $\text{CaCO}_3$  (Kontrolle, links) und 10 g/l  $\text{CaCO}_3$  (rechts).

HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Stress ausgesetzt waren. Nach etwa dreimonatiger Kulturdauer konnten deutliche Unterschiede zwischen den geprüften Arten bei den Stufen 5 und 10 g CaCO<sub>3</sub>/l festgestellt werden. Während das Wachstum der Sämlinge bei 1 g CaCO<sub>3</sub>/l (Kontrolle) nicht beeinträchtigt wurde, überlebten die toxische Grenze von 10 g CaCO<sub>3</sub>/l neben zahlreichen Sämlingen von *Rhododendron micranthum* nur wenige der Arten *Rh. occidentale* und *Rh. schlippenbachii* (Abb. 1).

Alle Sämlinge der übrigen Arten starben vollständig ab. Die ermittelten HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Konzentrationen (ca. 3500 mg/l Substrat) sind mit den höchsten in Kalkböden zu erwartenden HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Gehalten vergleichbar. Somit stellen die den HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-Stress überlebenden Pflanzen ein wertvolles Basismaterial für weitere Untersuchungen zur Klärung der Vererbung der Eigenschaft „Kalktoleranz“ dar.

Die Testung von Sämlingen der Gattungen *Enkianthus*, *Kalmia* und *Pieris* ergab, daß *Kalmia* deutlich empfindlicher als *Rhododendron* reagiert. Die Jungpflanzen von den 13 geprüften Genotypen wurden bereits durch 5 g CaCO<sub>3</sub>/l stark gehemmt und entwickelten kaum Wurzeln. Bei 10 g CaCO<sub>3</sub>/l unterblieb die Keimung der Aussaaten. *Enkianthus* und *Pieris* zeigten eine geringere Empfindlichkeit als *Kalmia*. Der Umfang der getesteten Genotypen erlaubt jedoch noch keine Aussage über die Variationsbreite des Merkmals „Kalktoleranz“ bei diesen Gattungen. Deshalb sollen weitere Herkünfte in die künftigen Untersuchungen einbezogen werden.

In Fortsetzung früherer Untersuchungen zur Erfassung von Fe-Adaptationsmechanismen, die eine Erhöhung der Fe-Aufnahme unter Fe-Mangel-Bedingungen bewirken, wurde eine neue Versuchsserie durchgeführt. Dabei wurde an den in *Rhododendron*-Genotypen 'Cunningham's White', *Rh. 16*, *Rh. hirsutum* und *Rh. micranthum*, die unterschiedlich kalk-empfindlich sind, geprüft, inwieweit diese Mechanismen als physiologische Marker für die Eigenschaft „Kalktoleranz“ geeignet sind. Nach 8 Wochen Hydrokultur mit bzw. ohne Eisen in der Nährlösung wurde mit Ausnahme von *Rh. hirsutum* eine erhöhte Fe<sup>3+</sup>-Reduktionskapazität der Wurzeln um das drei- bis vierfache bei den Pflanzen ohne Eisenversorgung im Vergleich zur Eisen enthaltenden Variante festgestellt. Außerdem konnte eine verstärkte H<sup>+</sup>-Abgabe der Wurzeln nur bei einigen Pflanzen der Variante ohne Eisenzugabe beobachtet werden. Die kalktoleranten Pflanzen von *Rh. micranthum* unterschieden sich hierbei von den anderen untersuchten Genotypen nicht wesentlich. Somit eignet sich diese Methode nicht zur Unterscheidung der Kalktoleranz verschiedener *Rhododendron*-Arten. Der direkten Testung auf mit Kalk angereicherten Substraten im Gewächshaus ist somit der Vorzug zu geben.

#### Abstract:

Seedling populations from 200 *Rhododendron* species were tested for calcium carbonate tolerance in greenhouse on substrates supplemented with different amounts of CaCO<sub>3</sub> (1, 5 or 10 g/l, respectively), resulting in pH levels of 4.2, 6.4 and 7.1, respectively. All plants died on stress substrate containing 10 g CaCO<sub>3</sub>/l except one pro-

geny of *Rh. micranthum* and few seedlings of *Rh. schlippenbachii* and *Rh. occidentale*. These plants will be used as parents in breeding programmes for lime tolerant genotypes. Tested populations of *Enkianthus*, *Kalmia* and *Pieris* showed a similar sensitivity to lime concentration as most of the *Rhododendron* species. No tolerant genotypes could be selected so far.

(BAZ-6125)

In Zusammenarbeit mit: G. D. Böhlje - Baumschulen, Westerstede

019

#### 4.3. Erweiterung der genetischen Variabilität bei *Erica gracilis* durch Verwendung von südafrikanischen Wildformen

**Extension of genetic variability in *Erica gracilis* by use of wild types from South Africa.**

Preil, W.; Ebbinghaus, R.

*Erica gracilis* zählt mit einer jährlichen Produktion von etwa 57 Mio Pflanzen zu den bedeutendsten Zierpflanzen des deutschen Erwerbsgartenbaues. Die enge genetische Basis des Handelssortimentes ist für eine züchterische Weiterentwicklung allein nicht ausreichend und erfordert die Einbeziehung von Wildformen aus den Ursprungsgebieten Südafrikas.

*Erica gracilis* is one of the most important ornamentals in German horticulture. The annual production exceeds 57 millions of plants. Due to the narrow genetical basis in standard varieties, wild types from South Africa will be included in breeding programmes for crop improvement.

Pflanzen einer *Erica gracilis* Wildpopulation aus dem Gebiet um Saasveld in der Nähe von George (Republik Südafrika) zeichnen sich besonders durch kräftigen Wuchs, gute Bewurzelbarkeit der Stecklinge und Reichblütigkeit aus. Sie wurden daher in den Vorjahren zu Kreuzungen mit der wichtigsten Handelssorte 'Glasers Rote' und Nachkommen aus 'Globularis' x 'Glasers Rote' verwendet. Aus diesen Kreuzungen hervorgegangene Eliteklone (Abb. 1) wurden erneut mit dem südafrikanischen Elter zur Übertragung von im Handelssortiment nicht vorhandener Eigenschaften rückgekreuzt.

Weitere Kreuzungen südafrikanischer Wildformen untereinander dienen der Herstellung spaltender Nachkommenschaften zur Erfassung der Variationsbreite zahlreicher wirtschaftlich wichtiger Eigenschaften. Hierzu gehören unter anderem neben der gewünschten Erhöhung der Widerstandsfähigkeit gegen Krankheiten (Wurzel- und Stammgrundfäule, Mehltau, Grauschimmel) die verminderte Empfindlichkeit gegen Spät- und Frühfröste, eine geringere Neigung zum Durchwachsen von Triebspitzen nach Blühbeginn und eine längere Haltbarkeit der Blüten. Nach Aussaat des 1995 erzeugten Kreuzungssaatgutes sollen die Nachkommenschaften 1996 jeweils geteilt werden, wobei ein Teil im Rahmen eines Resistenzzüchtungsprogrammes mit *Cylindrocodium scoparium* inokuliert wird, während die übrigen



Abb. 1: *Erica gracilis* Klone aus Kreuzungen von *E. gracilis* mit südafrikanischen Wildformen

Pflanzen 1997 zur Blüte gelangen. Die Erfassung der Variationsbreite morphologischer und physiologischer Eigenschaften sowie die Auslese von Eliten für die Fortführung des Vorhabens erfolgt nach Blühbeginn dieser Teilpopulationen.

#### Abstract:

Selected *Erica* plants originating from South Africa were crossed with the main cultivar 'Glaser's Rote' and with elite plants from progenies of 'Globularis' x 'Glaser's Rote'. Seedlings from these matings were tested for commercially important characters like onset of flowers, beginning of flowering, keeping quality, growth habit, and rooting of cuttings. In 1995 selected individuals were backcrossed with South African wild types in order to introduce traits not existing so far in European standard varieties. One part of these progenies will be tested for *Cylindrocladium scoparium* tolerance after artificial inoculation, the other part will be grown till flowering for evaluation genetic variability of other important characters.

(BAZ-6106)

In Zusammenarbeit mit: Sondergruppe AZERCA des Zentralverbandes Gartenbau (ZVG)

020

#### 4.4. Prüfung von Inzuchtlinien auf Zunahme des Homozygotiegrades Testing of inbred lines for increase of homozygosity

Pellny, T.\*; Schmidt, H.;  
Dunemann, F.

Ziel der Arbeit war es, Aussagen über die zu erwartende Zunahme des Homozygotiegrades in verschiedenen Inzuchtgenerationen

beim Apfel zu machen. Es wurden morphologische Merkmale und RAPD-Marker untersucht.

The aim was to collect information on the increase of homozygosity in different inbred generations of apple. Morphological characters and RAPD markers were investigated.

Aus der Züchtung von A. Karnatz, Berlin, stehen eine Reihe von Sämlingen und Klonen der 1., 2., 3. und 4. Inzuchtgeneration verschiedener Apfelsorten zur Prüfung auf Nutzbarkeit in der Züchtung sowie genetische Studien zur Verfügung. Verschiedene Inzuchtstufen der Sorte 'Golden Delicious' wurden morphologisch und mit Hilfe von RAPD untersucht. Ziel der Arbeit war es, Aussagen über die zu erwartende Zunahme des Homozygotiegrades zu machen.

Wie aus dem Stammbaum zu ersehen ist (Abb. 1), standen 5 I<sub>1</sub>-Genotypen zur Verfügung, nicht aber die, von denen sich die meisten

höheren Inzuchtstufen ableiten. Die Nachkommenschaftsgrößen der I<sub>4</sub> war bis auf 86/25 sehr gering. Trotzdem lassen sich folgende Aussagen treffen:

In allen Inzuchtstufen treten Individuen mit z. T. kräftiger Deckfarbe der Früchte auf. Bei 86/25 ist sie schwach ausgeprägt, aber mit sehr geringer Streuung zwischen den Bäumen.

Die Fruchtgröße nimmt ab I<sub>3</sub> (nur ein Baum) deutlich ab. Der näherungsweise mit pH-Indikatorstreifen (pH 2,5...4,5) ermittelte Säuregrad schwankt um den von 'Golden Delicious' mit Ausnahme von 86/25, bei der 19 von 22 Individuen sog. Süßäpfel mit pH-Werten gleich oder größer 3,8 und damit rezessiv für das Säuregen „mama“ sind.

RAPD-Marker, die bei 'Golden Delicious' fehlen, dürfen

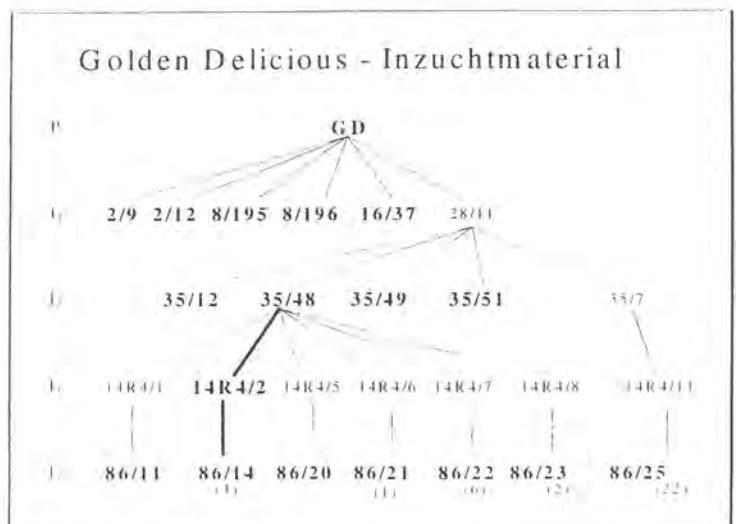


Abb. 1: Stammbaum der 'Golden Delicious'-Inzuchtlinien. Von den fettgedruckten Genotypen stand Blattmaterial zur Verfügung. In Klammern unter den I<sub>4</sub> ist die Anzahl der von der Nachkommenschaft für die RAPD-Analyse benutzten Individuen angegeben.

in den Inzuchtlinien nicht auftreten. Dies wurde jedoch für alle fünf untersuchten  $I_1$ -Pflanzen für jeweils 1 bis 4 der 25 Marker festgestellt. Der  $I_3$ -Baum 14R4/2 weist im Vergleich zur  $I_2$  3548 zwei neue Banden auf. Unter den 3  $I_4$ -Individuen (86/14) von 14R4/2 treten neunmal neue Banden auf. Für 86/25 ist nur der direkte Vergleich mit 'Golden Delicious' möglich: mit 5 Primern kommen neue Banden vor. Es muß also bei dem untersuchten Material zu Fremdeinkreuzungen gekommen sein. Die morphologisch erkennbare Nähe zu 'Golden Delicious' der meisten Individuen sowie die beobachteten 1:1-Spaltungen für einzelne Marker lassen für die höheren Inzuchtgenerationen Kreuzungen zwischen nahe Verwandten vermuten.

RAPD-Marker zeigen im allgemeinen keine Codominanz. Homozygote Rezessive können daher nur indirekt durch "Verschwinden" von Banden ermittelt werden. Es wurde davon ausgegangen, daß aus dem Wegfall von Banden mit steigendem Inzuchtgrad auf ein etwa gleich hohes Homozygotwerden dominanter Allele geschlossen werden kann. Bei 86/25 fehlen im Vergleich zu 'Golden Delicious' bei den einzelnen Pflanzen zwischen 6 und 10 Markerfragmente, was auf eine Zunahme der Homozygotie mit den angegebenen Einschränkungen schließen läßt. Die bereits morphologisch aufgefallene hohe Einheitlichkeit der Nachkommenschaft 86/25 stützt die Clusteranalyse: sämtliche 22 Pflanzen clustern stets zusammen, während dies für die übrigen  $I_1$ ,  $I_2$ ,  $I_3$  und  $I_4$  nicht zutrifft.

#### Abstract:

Inbred material of the cv. 'Golden Delicious' was studied morphologically and with RAPD for increasing homozygosity. In all stages of inbreeding, from  $I_1$  to  $I_4$  between 1 to 4 new markers out of 25 tested were found. This leads to the assumption that not all selfs are true inbreds. Some may be backcrosses (1:1 segregation in specific loci). Progeny 86/25 is remarkably uniform in some morphological characters like overcolour of fruit and acidity of fruit juice, 19 out of 22 seedlings carrying the recessive alleles for malic acid „mama“. Since RAPD usually do not show codominance an increasing degree of homozygosity can only be concluded indirectly from the disappearance of the dominant markers. This was obvious for progeny 86/25 for 6 to 10 markers. In a cluster analysis all 22 seedlings clustered together which was not so in the other inbreds analyzed.

In Zusammenarbeit mit: Karnatz, Berlin; Tenzer, ETH, Zürich, Schweiz; Parisi, Benaouf, INRA, Angers, Frankreich

\* Diplomand Universität Hannover

021

#### 4.5. Züchtung von Süßkirschen

##### Breeding of sweet cherry varieties

Schmidt, H.; Timmann, E.-M.; Schulze, M.

*Es wurden Untersuchungen des Pollenschlauchwachstums zur Identifizierung der S-Allelen-Konstitution von Eltern und Nachkommen durchgeführt. Zwar sind im deutschsprachigen Raum Inkompatibilitätsgruppen bei Süßkirschen bekannt, nicht aber deren Anbindung an die international gebräuchliche Terminologie der S-Allele.*

*The identification of the S allele constitution of parents and progenies is part of a sweet cherry breeding programme. Incompatibility groups are known for German cultivars, however, the parallelity of international identified S-allels is still lacking.*

Mehrjährige Untersuchungen des Pollenschlauchwachstums, ergänzt durch entsprechende Kreuzungen und Fruchtansatz-Daten vom Standort Jork, führen zu dem Ergebnis, daß mit größter Wahrscheinlichkeit die Jorker Neuzüchtungen 'Erika', 'Valeska', 'Oktavia', 'Regina' und die alte Sorte 'Schubacks' zur gleichen Inkompatibilitätsgruppe gehören wie die Sorten 'Van' und 'Venus' und die genetische Konstitution  $S_1S_3$  haben. Sie sind in beiden Kreuzungsrichtungen miteinander und mit den genannten Sorten inkompatibel. Die nach Literaturangaben ebenfalls in diese Gruppe gehörenden Sorten 'Mermet' und 'Merton Bigarreau' sind mit 'Van' kompatibel, 'Merton Bigarreau' auch mit 'Erika', 'Oktavia' und 'Regina'. Sie können also nicht die gleiche S-Allelen-Konstitution haben.

Die Sorte 'Ulster' ist mit 'Büttners Roter Knorpel' ( $S_3S_4$ ) inkompatibel. Dies bestätigt die mündliche Mitteilung von R.L. Andersen, Geneva, USA, daß 'Ulster' bisher in die falsche Gruppe  $S_2S_4$  eingeordnet war, aber  $S_3S_4$  ist.

Die Sorte 'Hedelfinger' wurde bisher der Gruppe 0, „universal donors“, zugeordnet, da keine Inkompatibilitäten bekannt waren. Dies kann nicht aufrecht erhalten werden. Unsere Untersuchungen stützen die Daten aus Dresden-Pillnitz, daß 'Hedelfinger' mit 'Nadino' inkompatibel ist. Eine Zuordnung von S-Allelen war bisher nicht möglich.

Kreuzungen und Selbstungen zwischen Selbstfertilen, den Ausgangsmutanten 'John Innes 2420', 'John Innes 2434', 'John Innes 2538' und den von 'John Innes 2420' abstammenden Sorten 'Stella', 'Sunburst', 'Lapins', haben in beiden Kreuzungsrichtungen keine Inkompatibilitäten erkennen lassen.

Aus Kreuzungen mit selbstfertilen Mutanten und Sorten läßt sich ableiten:

In der Nachkommenschaft (NKS) 'Alma' x 'John Innes 2420' spalten selbstfertile (SF) und selbstinkompatible (SI) Sämlinge heraus (9 SF : 7 SI). Die Mutante 'John Innes 2420' trägt eine Mutation in  $S_4$ , die die Pollenaktivität der Inkompatibilitätsreaktion verhindert. Sie ist  $S_3S_4$ . Die Konstitution von 'Alma' ist nicht bekannt. Wenn die Sämlinge 1 SF : 1 SI spalten, kann 'Alma' kein  $S_3$ -Allel tragen.

In der NKS 'Mermet' x 'Sunburst' sind eindeutig SI aufgetreten (21 SF : 18 SI). 'Sunburst' geht auf die

Kreuzung 'Van' ( $S_1S_3$ ) x 'Stella' ( $S_3S_4$  oder  $S_4S_4$ ) zurück. Danach könnte 'Sunburst' entweder  $S_1S_4$  oder  $S_3S_4$  sein mit der Folge, daß jeweils nur Pollen mit dem mutierten Allel zur Befruchtung gelangen kann, also alle Sämlinge SF sein müßten. 'Mermet' kann nicht  $S_1S_3$  sein.

Abstract:

First results from cherry crosses, pollen tube studies, and crosses in the field, can be given:

It is very likely that the Jork cultivars 'Erika', 'Valeska', 'Oktavia', 'Regina', 'Schubacks' belong to the same incompatibility group as 'Van' and 'Venus' with the

constitution  $S_1S_3$ . 'Merton Bigarreau' and 'Mermet' were compatible with 'Van', and 'Merton Bigarreau' with 'Erika', 'Oktavia' and 'Regina', too. Thus they cannot belong to the same incompatibility group. This is supported by a 1 SF : 1 SI segregation in a cross 'Mermet' x 'Sunburst'. The 1 SF : 1 SI segregation in an 'Alma' x 'John Innes 2420' progeny leads to the conclusion that 'Alma' cannot carry a  $S_3$  allele since 'John Innes 2420' is identified as being  $S_3S_4$ .

(BAZ-6104)

In Zusammenarbeit mit: Wolfram, BAZ, Inst. f. Obstzucht, Dresden-Pillnitz

022

## Institut für Resistenzforschung Institut for Resistance Research Aschersleben

Das Institut für Resistenzforschung hat die Aufgabe, morphologische, physiologische, biochemische und genetische Ursachen der Resistenz von Pflanzen gegen Krankheitserreger zu ermitteln. Die Forschungsarbeiten gliedern sich dabei in folgende Schwerpunkte:

- Untersuchung von Wirt-Pathogen-Interaktionen zur Aufklärung von Pathogenese- und Resistenzvorgängen.
- Gentechnische Erzeugung neuartiger Krankheitsresistenz durch Übertragung definierter DNA-Sequenzen in das Genom von Kulturpflanzen und Analyse des Wirkmechanismus.
- Entwicklung und praxisbezogene Optimierung biologischer, biochemischer und molekularbiologischer Methoden zum Nachweis von Pathogenresistenz in Kulturpflanzen.

Die wesentlichen Pathosysteme im zurückliegenden Jahr waren:

- Kartoffel/potato virus Y; Gerste/*Drechslera teres*, barley mild mosaic virus; *Lolium* spp./ryegrass mosaic virus; Zuckerrübe/ Rhizomaniavirus, *Polymyxa betae*; Weizen/*Xanthomonas translucens*; Apfel/Mehltau; Erbse/pea seedborne mosaic virus.

The Institute for Resistance Research investigates morphological, physiological, biochemical and genetic factors of pathogen resistance of cultivated plants. Main fields of research are:

- Investigation of host-pathogen interactions for elucidation of pathogenesis and resistance mechanisms.
- Creation of genetically engineered new types of resistance to pathogens by transfer of cloned DNA-sequences into the plant genome and analysis of the mechanism of action.
- Development and practical improvement of biological, biochemical and molecular methods for detection of pathogen resistance in cultivated plants.

Current research is focussed on the following pathosystems:

- Potato/potato virus Y; barley/*Drechslera teres*, barley mild mosaic virus; *Lolium* spp./ryegrass mosaic virus; sugar beet/Rhizomaniavirus, *Polymyxa betae*; wheat/ *Xanthomonas translucens*; apple/powdery mildew; pea/pea seedborne mosaic virus.

### 1. Physiologie und Biochemie der Resistenz Physiology and Biochemistry of Resistance

- 1.1. Untersuchungen zur Resistenz von Gerste gegen *Drechslera teres*: Vergleichende Untersuchungen zur Wirkung bestimmter Stressoren und Elizitoren auf die Proteinmuster von Gerstenblättern  
Investigations on resistance of barley to *Drechslera teres*: Comparative investigations of the effect of specific stressors and elicitors to protein patterns in barley leaves  
Reiss, E.

Erfassung der Wirkung von Stressoren und möglicher Elizitoren auf die Proteinsynthese in Gerstenblättern und Vergleich mit den durch Infektion mit *Drechslera teres* bedingten Effekten.

*Analysis of the action of stressors and putative elicitors on protein synthesis in barley leaves and comparison with effects caused by Drechslera teres.*

In sauren Extrakten von Keimpflanzen der Gerste, die mit *Drechslera teres* f. *teres* infiziert oder mit einer Toxinfraktion aus dem Kulturfiltrat des Pilzes behandelt worden waren, konnte 4 Tage nach der Inokulation bzw. Behandlung mit Hilfe elektrophoretischer und immunologischer Methoden die Akkumulation einer Vielzahl von PR-(pathogenesis-related)-Proteinen beobachtet werden. Unter ihnen wurden jeweils verschiedene Isoformen der Chitinase (PR-3),  $\beta$ -1,3-Glucanase (PR-2) und der Peroxidase (PR-9) aufgrund ihrer enzymatischen Substratspezifität nachgewiesen. Die Vertreter der PR-5-Familie, die man auch als TL-(thaumatin-like)-Proteine bezeichnet, wurden nach einer zweidimensionalen Elektrophorese und einem Western Blot mit einer N-terminalen Mikrosequenzierung analysiert. Auf der Grundlage der ermittelten partiellen Aminosäuresequen-

zen und der Lokalisation der Proteine im 2D-Gel in den Koordinaten von Molekulargewicht und isoelektrischem Punkt (pI) lassen sich acht verschiedene Isoformen der TL-Proteine der Gerste unterscheiden. Sie fanden sich im Molekulargewichtsbereich von 15 bis 23 kDa. Ihre pI-Werte liegen im sauren (<3,5), im schwach sauren (5...6) und im basischen (8...9,5) Bereich. Bei den Sequenzen wurden zu beschriebenen Proteinen (PRHv-1A,-1B und -1C, zu den Proteinen R und S sowie zu einem TL-Protein aus Reis) Homologien in unterschiedlichem Maße (60 bis 93 %) festgestellt. Die offensichtliche Vielfalt der bisher untersuchten Abwehr-Proteine in der Gerste deutet möglicherweise auf deren hohe Spezifizierung hinsichtlich Funktion sowie Ort und dürfte damit die Auswahl von Proteinen beeinflussen, die man zur Resistenzhöhung in den Pflanzen auf dem Weg des Gentransfers exprimieren möchte.

#### Abstract:

Among the PR-proteins induced by infection with *Drechslera teres* f. *teres* or by other stressors various isoforms of chitinase (PR-3),  $\beta$ -1,3-glucanase (PR-2) and peroxidase (PR-9) were detected. Furthermore, eight TL-proteins (PR-5) were discriminated by their localization in the 2D-gels in the terms of molecular weights and pI's and by the N-terminal sequences of their amino acid residues

(BAZ-2101)

In Zusammenarbeit mit: Horstmann, IPK, Gatersleben  
023

#### 1.2. Untersuchungen zur Resistenz von Gerste gegen *Drechslera teres*: Überprüfung der postinfektionellen Proteinsynthese in Gerstenblättern auf pathogenspezifische und resistenzrelevante Veränderungen

Investigations on resistance of barley to *Drechslera teres*: Examination of post-infectious protein synthesis in barley leaves with regard to pathogen specific and resistancerelated alterations  
Reiss, E.

*Erfassung von Veränderungen in Gerstenblättern auf der Ebene der Proteine zur Charakterisierung von Wirt-Pathogen-Interaktionen mit Drechslera teres*

*Investigation of alterations in barley leaves on protein levels to characterize host-pathogen-interactions with Drechslera teres*

Für den Nachweis von vier PR-Proteinen aus den Familien PR-1(a), PR-1(b), PR-3 (Chitinase) und PR-5 (TL-Protein Hv-1) wurden indirekte ELISA-Verfahren etabliert. Dabei wurden die Mikrotiterplatten direkt mit den Proteinprobenlösungen beschichtet und die reagierenden Antikörper aus Antiseren oder IgG's mittels Anti-Kaninchen-IgG-AP-Konjugat nachgewiesen. Mit dem ELISA wurde die Akkumulation der PR-Proteine in Gerstenkeimpflanzen im Verlaufe von 5 Tagen nach der Inokulation mit *Drechslera teres* f. *teres* gemessen. Die erhaltenen Zeitverlaufskurven für die untersuchten Pro-

teine zeigten qualitativ keine Unterschiede. Sie lagen aber im Falle der anfälligen Sorte 'Karat' im Vergleich zur resistenten Sorte 'Zenit' durchweg höher und erreichten dabei nach 2,5...3,5 dpi eine gewisse Sättigungskonzentration, während sie im Falle der Resistenzreaktion eher einen biphasischen Verlauf zeigten mit einem ersten Gipfel bei 2...2,5 dpi (Abb. 1).

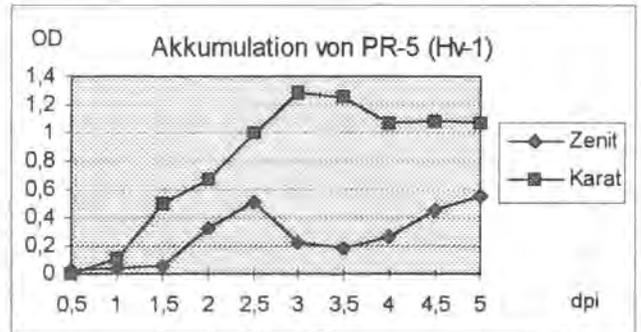


Abb. 1: ELISA von PR-5 Protein in Primärblatt-Extrakten der resistenten Gerstensorte 'Zenit' und der suszeptiblen Sorte 'Karat' nach Inokulation mit *Drechslera teres* f. *teres*

Die Symptombildung erfolgt dagegen im allgemeinen 3 dpi.

#### Abstract:

Antisera against four PR-proteins of barley (PR-1a, PR-1b, PR-2 and PR-5) were used to establish an ELISA and to analyze the time-course of accumulation of these proteins after the inoculation with *Drechslera teres* f. *teres*. The accumulation starts earlier than the necrotic symptoms become visible at 3 dpi. There are some differences between the susceptible variety 'Karat' and the resistant variety 'Zenit' in so far as the susceptible reaction produces more PR-proteins increasing steadily in concentration whereas the graph in the case of the resistant reaction shows a biphasic course with a first peak at 2...2,5 dpi

(BAZ-2102)

In Zusammenarbeit mit: Bryngelsson, Swedish Univ. Agric. Sci., Svalöv, Schweden; Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben

024

**1.3. Untersuchungen zur Resistenz von Gerste gegen *Drechslera teres*: Biologische Prüfung von Monoklonal-Linien von *Drechslera teres* an ausgewählten Gerstenlinien mit definierter Resistenzreaktion sowie histologische Analyse der Pathogenabwehr**

**Investigations on resistance of barley to *Drechslera teres*: Biological test of monoklonal lines of *Drechslera teres* on selected barley genotypes with known resistance and histological studies on the pathogen defense**  
Nachtigall, M.

*Resistenzgenetische Analyse des Wirt-Pathogen-Systems. Aufklärung von Resistenzursachen sowie Selektion von Resistenzmarkern für die Nutzung im Zuchtprozeß. Analyse der Symptomausprägung in Abhängigkeit von der Resistenz-Virulenz-Kombination und Prädisposition der Wirtspflanze. Histologische Untersuchung der Resistenzreaktion*

*Analysis of resistance genetics in the host-pathogen-system. Investigation of the basis of resistance and selection of resistance markers for application in the selection process. Studies on symptom expression with respect to the resistance-virulence combination and the predisposition of the host plant. Histological investigation of the resistance reaction*

Ausgehend von den im Institut für Epidemiologie und Resistenz durchgeführten Virulenz- und Anfälligkeitsuntersuchungen wurden verschiedene *Drechslera teres*-Isolate und fünf verschiedene Gerstengenotypen ('Karat', 'Salome'- anfällig; 'Zenit', HOR 10625, *Hordeum spontaneum* 213 resistent) sowie *Avena strigosa* Nr 318\* (bisher nicht als Wirtspflanze beschrieben) für unsere Untersuchungen ausgewählt.

Mit einer Konidiensuspension (30 000 Konidien/ml) des Pilzes wurden abgetrennte Blätter besprüht und bei 20 °C in einer feuchten Schale inkubiert. Nach 6, 12, 24 und 48 Stunden wurden die Blätter in einem Gemisch aus Ethanol/Chloroform/Trichloressigsäure vollständig entfärbt.

Anschließend wurden die Proben mit Anilinblau, Perjodsäure-Schiff, Phloroglucin sowie Uvitex 2B behandelt. Mit Hilfe der Phasenkontrast- bzw. UV- Fluoreszenzmikroskopie wurden sowohl spezielle Infektionsstrukturen (gekeimte Konidien, Keimhyphen, Appressorien, intrazelluläre Vesikel) als auch bestimmte Abwehrreaktionen der Wirtspflanze (Papillenbildung, Zytoplasmaaggregation) quantitativ erfaßt. Während *H. spontaneum* und *HOR 10625* nur einen Befall von 1 % der Blattfläche aufwiesen, waren bei den Sorten 'Karat' und 'Salome' auf 10...15 % der Blattfläche typische Netzflecken zu beobachten.

Nach einer ersten Analyse der o. g. Infektionsstrukturen war zu erkennen, daß bei den weniger anfälligen Genotypen der Pilz durchschnittlich nur mit jedem 4. Appressorium in der Lage war, in die Pflanze einzudringen, während bei den anfälligen Sorten bei jedem 2. Appressorium eine erfolgreiche Penetration beobachtet wurde. Auch bei *A. strigosa* konnte *D. teres* in das Blattgewebe

eindringen, jedoch war die Penetrationshäufigkeit im Vergleich zu den anfälligen Gerstensorten deutlich geringer

Bei den Sorten 'Karat' und 'Zenit' wurde versucht, durch Hitzebehandlung eine Resistenzreaktion zu induzieren. Dafür wurden Blätter für 60 sec bei 50 °C in ein Wasserbad getaucht und anschließend 2 h an der Luft getrocknet. Die Blätter wurden abgetrennt, in eine feuchte Schale gelegt und mit Konidiensuspension besprüht. Dabei zeigte sich, daß die Hitzebehandlung zu einer deutlichen Befallsreduktion führte, hinsichtlich der auftretenden Infektionsstrukturen jedoch keine Unterschiede zu erkennen waren. Ferner konnten bei den hitzebehandelten, infizierten Pflanzen beträchtliche Enzymaktivitäten (Zellulase, Xylanase) nachgewiesen werden.

Ob es sich bei diesen Beobachtungen um eine echte Resistenzreaktion handelt, bleibt weiteren Untersuchungen vorbehalten. Weitere resistenzanalytische Untersuchungen auf zellulärer Ebene sollen zur Erfassung der Wirt-Pathogen-Interaktion beitragen und Aussagen über die Pathogenabwehr liefern.

**Abstract:**

In the framework of investigation on the host-pathogen-system barley-*Drechslera teres* we analyzed the appearance of infection structures (number of germinated konidia, germ tubes, appressoria and penetration of the fungus) using differential interference contrast microscopy and fluorescence microscopy after staining with anilinblue, phloroglucinol-HCl and Uvitex 2B.

In the susceptible genotypes 'Karat' and 'Salome' we observed a two-fold penetration intensity. In contrast, the fungus penetrated into *Avena strigosa* (no host plant) to a minor degree.

After heat treatment the plants showed no symptoms, but we could not observe any differences in the occurrence of infection structures. Furthermore, in heat-treated and infected plants there were considerable extracellular enzyme activities (cellulase and xylanase).

(BAZ-2103)

In Zusammenarbeit mit: Kopahnke, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

\* Die Bereitstellung des Saatgutes erfolgte durch Herrn Dr. M. Herrmann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz 025

**1.4. Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Weizen nach Befall mit *Xanthomonas campestris* pv. *translucens***

**Investigations on resistance of wheat to *Xanthomonas campestris* pv. *translucens***  
Nachtigall, M.

*Erarbeitung effizienter Selektionsverfahren zur Ermittlung von Resistenz gegen bakterielle Krankheitserreger als Voraussetzung für die Erkennung nutzbarer Resistenzquellen sowie für die Schaffung von neuem Basismaterial. Klassische Resistenzprüfung mit Hilfe biologischer Methoden*

Development of efficient selection methods to screen for resistance to bacterial pathogens as a prerequisite for the detection of new resistance sources and for generating of new basis material. Classical evaluation for resistance by means of biological methods

Die bakterielle Streifenkrankheit des Weizens wird durch einen Erregerkomplex hervorgerufen, zu dem neben *X. campestris* pv. *translucens* auch *X. campestris* pv. *undulosa* und *X. campestris* pv. *cerealis* gehören.

Auf der Grundlage einer zu erarbeitenden Selektionsmethode sollte das Resistenzniveau der im Anbau befindlichen Weizensorten analysiert werden. Als Pflanzenmaterial wurden zehn Winterweizen- und fünf Sommerweizensorten aus dem aktuellen Anbausortiment des Bundesortenamtes verwendet. Zwei mexikanische Brotweizensorten ('Moroco'-anfällig; 'Thornbird'-resistent) dienten als Standard für unsere Anfälligkeitsuntersuchungen.

Je Sorte wurden 30 Pflanzen mit jeweils 3 Inokulationsstellen im 4-Blattstadium mit *X. c.* pv. *undulosa* UPB 443<sup>7</sup> infiziert und in der Klimakammer bei 24 °C (12 h Tag/12 h Nacht) inkubiert. Nach 3...4 Tagen traten die ersten Symptome in Form von wasserdurchtränkten Flecken auf. An der Inokulationsstelle bildeten sich im weiteren Verlauf der Krankheit Chlorosen und Nekrosen, eine systemische Ausbreitung konnte jedoch unter unseren Bedingungen nicht beobachtet werden. Anhand der prozentual befallenen Blattfläche wurden die Pflanzen nach 14 Tagen bonitiert. Die Versuche wurden in drei- bzw. fünffacher Wiederholung angelegt und mit Hilfe des Tukey-Testes statistisch ausgewertet.

Die Prüfung verschiedener Inokulationsmethoden zeigte, daß die Infiltration des Erregers mittels Spritze in die Blattspreite sehr effektiv ist und bei einer Inokulumdichte von  $1 \times 10^5$  cfu/ml die für diese Krankheit typischen wasserdurchtränkten Blattflecken auftreten. Diese Methode ist einerseits mit dem natürlichen Infektionsvorgang nicht zu vergleichen, stellt andererseits aber eine sehr scharfe Prüfbedingung dar und ist nur schwer zu standardisieren. Da ein Auftreten von getreidepathogenen Xanthomonaden in Deutschland bisher nicht nachgewiesen wurde und es sich somit um einen echten Quarantäneerger handelt, konnten wir unsere Prüfungen nur unter kontrollierten Bedingungen durchführen. Unter den von uns gewählten Versuchsbedingungen zeigte die anfällige Sorte 'Moroco' nur einen geringen Befall. Auch in der Literatur wird darauf hingewiesen, daß die Prüfergebnisse aus dem Gewächshaus nicht mit den Ergebnissen aus dem Freiland korrelieren.

Innerhalb der geprüften Winterformen lassen sich die Sorten 'Zentos', 'Bontaris' und 'Kontrast' als weniger anfällig einstufen, während die anderen Genotypen einen deutlich höheren Anfälligkeitsgrad aufwiesen (Abb. 1).

Auch die Sommerweizensorte 'Turbo' zeigte ähnlich wie die Sorte 'Moroco' eine deutliche Tendenz zu höherer Anfälligkeit (Abb. 2). Die Standardabweichungen sind z. T. beträchtlich, gleichzeitig traten zwischen den einzelnen Versuchen bereits signifikante Unterschiede auf.

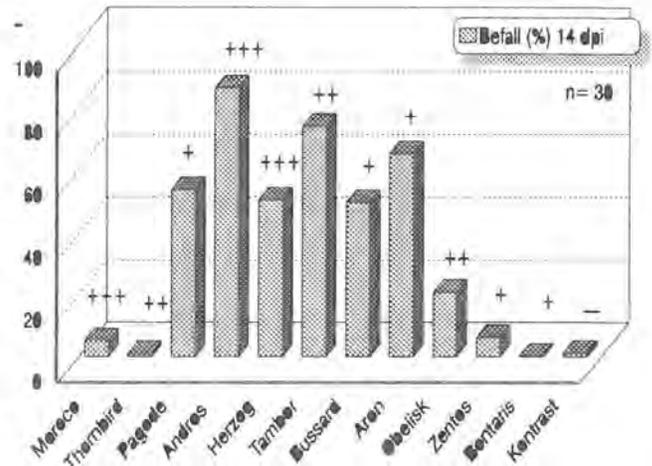


Abb. 1: Anfälligkeit verschiedener Winterweizensorten nach der Infektion mit *X. campestris* pv. *undulosa* (Bonitur nach DUVEILLER, 1992) Reaktion im indirekten ELISA:

+++ stark  
++ mittel  
+ schwach  
- keine

Parallel zur Selektion auf Krankheitsresistenz wurde die Vermehrung des Pathogens in symptomtragenden Weizenblättern analysiert. Während bei der Sorte 'Thornbird' im Vergleich zur Sorte 'Moroco' die Bakteriendichte pro cm<sup>2</sup> Blattfläche nur langsam zunahm, waren zum Zeitpunkt der Befallsbonitur (14 dpi) keine Unterschiede nachweisbar. Bei den beiden Genotypen 'Ralle' und 'Planet' war die Bakterienvermehrung in der Pflanze dagegen deutlich gehemmt.

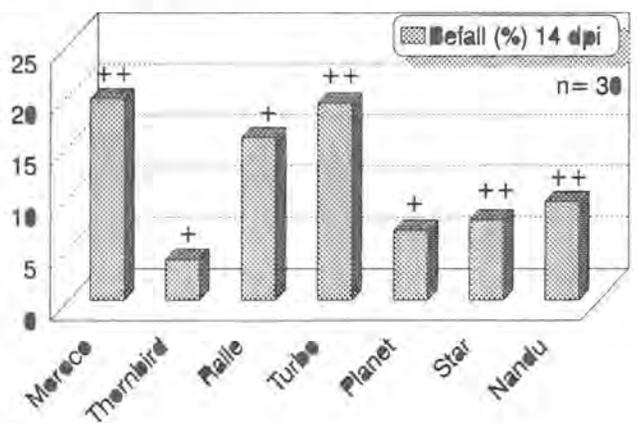


Abb. 2: Anfälligkeit verschiedener Sommerweizensorten nach der Infektion mit *X. campestris* pv. *undulosa* (Bonitur nach DUVEILLER, 1992) Reaktion im indirekten ELISA:

+++ stark  
++ mittel  
+ schwach  
- keine

Ferner wurden für den Erregernachweis polyklonale Antiseren hergestellt und auf ihre Spezifität und Sensitivität getestet. Dabei konnte festgestellt werden, daß mit anderen Xanthomonaden sowie mit dem ebenfalls an Getreide pathogenen Bakterium *Pseudomonas atrofaciens* keine Kreuzreaktionen auftraten. Die Nachweisgrenze lag bei einer Bakterienkonzentration von ca.  $5 \times 10^4$  Zellen/ml. Eine serologische Unterscheidung der drei *Xanthomonas*-Pathovaren *undulosa*, *translucens* und *cerealis* war nicht möglich. Ein Vergleich verschiedener ELISA-Varianten ergab im indirekten ELISA ohne Vorbeschichtung unter Verwendung eines polyklonalen bzw. monoklonalen Antiserums \*) die größte Nachweissicherheit. Auch in infizierten Pflanzenproben war mit beiden Seren ein sicherer Erregernachweis möglich. Die polyklonalen Seren ließen sich nicht konjugieren und waren bei Lagerung im Kühlschrank sehr instabil.

Das Bakterium konnte aus inokulierten Pflanzen über XTS-Agar (ohne Gentamycin) und Wilbrink's-Medium isoliert werden.

Mit dem hier vorgestellten Verfahren kann das Resistenzverhalten von Genotypen unter kontrollierten Bedingungen analysiert und mit Unterstützung serologischer Verfahren ein sicherer Pathogennachweis geführt werden.

#### Abstract:

The susceptibility of ten winter and five spring wheat varieties to bacterial leaf streak was analyzed under greenhouse conditions. Seedlings at the 4-leaf stage were inoculated (artificial inoculum pressure) by infiltrating a bacterial suspension ( $1 \times 10^5$  cfu/ml) into thin leaves with a syringe. After 3 to 4 days first symptoms in form of translucent stripes, watersoaked lesions, and occasionally honey-like exsudates occurred. Significant differences in the average percentage of diseased leaf area between varieties were observed. The varieties 'Zentos', 'Bontaris' and 'Kontrast' were found to be less susceptible compared to other varieties. In contrast, the spring wheat variety 'Turbo' showed a higher susceptibility to *X. campestris* pv. *undulosa*. Parallel to the selection for resistance we analyzed the multiplication of the pathogen in wheat leaves. In the moment of scoring there were no differences between the varieties 'Moroco' (susceptible) and 'Thornbird' (resistant) in bacterial density. Vice versa the multiplication of *X. c.* pv. *undulosa* was clearly inhibited in the varieties 'Ralle' and 'Planet'.

In our serological studies we found no cross reactions with other Xanthomonades and *Pseudomonas atrofaciens*. Polyclonal and monoclonal antibodies were used in different ELISA variants to detect the pathogen in infected leaves and in bacterial suspensions. The detection limit was  $5 \times 10^4$  cfu/ml, and both antibodies reacted positively with *X. c.* pv. *undulosa*, *X. c.* pv. *translucens* and *X. c.* pv. *cerealis*.

(BAZ-2104)

\*) Das *X. c.* pv. *undulosa*-Isolat und das monoklonale Antiserum wurden uns von Herrn Dr. C. Bragard, Uni-

versité Catholique de Louvain (Belgien) zur Verfügung gestellt.

026

#### 1.5. Untersuchungen zur Vektorübertragung und Translokation beim Rizomaniavirus

##### Investigations on vector transmission and translocation of Rhizomania virus

Kastirr, U.

*Schaffung definierter virusfreier und virustragender Polymyxa-betae-Kulturen; Lichtmikroskopische Untersuchung und Translokation in der Zuckerrübe; Untersuchungen der Viruslangstreckenausbreitung nach Vektorübertragung*

*Production of definite virus-free and virus-containing cultures of Polymyxa graminis, light microscopical investigations on virus transmission and translocation in sugar beet. Investigations on the long distance transport of the virus in the plant following virus transmission*

Die Ergebnisse zum Mechanismus der Virusübertragung von Zuckerrübenviren durch *Polymyxa betae* wurden 1995 als Abschlußbericht an die DFG eingereicht. Im Institut für Resistenzforschung wurden folgende Schwerpunkte bearbeitet:

1. Hemmung von *Polymyxa betae* durch *Bacillus subtilis*,
2. Hinweise auf vektorbezogene Rizomania-Resistenz bei Zuckerrüben,
3. Einsatz der in-situ-Hybridisierung zur Untersuchung des Infektionsverlaufes an Wurzelschnitten.

#### 1. Hemmung von *P. betae* durch *Bacillus subtilis*

Wie aus Untersuchungen zur biologischen Bekämpfung von Phytopathogenen bekannt ist, wird die Übertragung des Rizomania-Virus *BNYVV* (beet necrotic yellow vein virus) durch Zoosporen von *Polymyxa betae* in Hydrokultur gehemmt (Abb. 1).

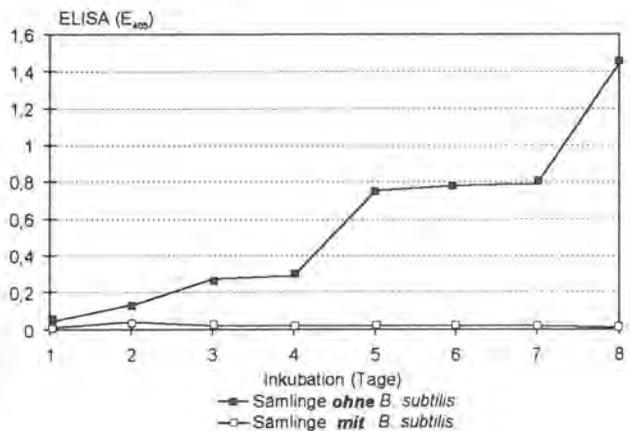


Abb. 1: Hemmung der durch *Polymyxa betae* vermittelten BNYVV-Übertragung auf Zuckerrübensämlingswurzeln durch *Bacillus subtilis*

Die von *Bacillus subtilis* in das Kulturmedium abgegebenen Antibiotika beeinträchtigen die Beweglichkeit der Zoosporen und deren Fähigkeit zum Eindringen in die Zuckerrübenwurzeln. Durch Wirkstofftests konnte die antibiotische Wirkung des Antagonisten auf Virus und pilzlichen Vektor innerhalb der Pflanzenwurzeln ausgeschlossen werden. Einmal erfolgte Infektionen werden somit durch *B. subtilis* nicht mehr beeinflusst, während neue Infektionen (Reinfektionen) durch sekundär schwärmende Zoosporen verhindert werden. Somit können der Infektionsverlauf in der Pflanze nach einmaliger Infektion verfolgt und die Rolle von pilzlichem Vektor und übertragenem Virus im Infektionsgeschehen und bei der Virusausbreitung im Pflanzengewebe getrennt charakterisiert werden.

## 2. Hinweise auf vektorbezogene Rizomania-Resistenz bei Zuckerrüben

Durch Vergleich des Verlaufs der BNYVV-Infektion mit und ohne Reinfektion der Sämlinge wurden Hinweise auf vektorbezogene Anteile der Rizomania-Resistenz bei Zuckerrüben erhalten. Die unterschiedliche Verteilung des Virus in den Wurzeln jeweils einer anfälligen und einer resistenten Rübensorte wurde durch Tissue Print Immuno Blotting (TiPIB) dokumentiert. Durch TiPIB konnte anhand der angefärbten Virusherde gezeigt werden, daß nach dreitägiger Inokulation bereits eine vielfache Virusübertragung an verschiedensten Seitenwurzelschnitten mittels Zoosporen erfolgte. Der Virustiter in infizierten Wurzeln anfälliger und resistenter Pflanzen nahm in der weiteren Infektionsentwicklung stetig zu. Demnach war die Vermehrung des Virus, nachdem es einmal in die Pflanze gelangt war, bei beiden Sorten gleich effizient.

Die relative Rizomania-Resistenz der Sorte 'Patricia' kann also allein mit der Teilresistenz gegenüber dem pilzlichen Vektor erklärt werden.

Das im Verlaufe des Projekts etablierte Tissue Print Hybridization Blotting (TiPHB) mit *Polymyxa*-spezifischen Sonden ermöglicht eine Darstellung der Vektorverteilung im Wurzelsystem. Durch kombinierte Anwendung beider Verfahren an der gleichen Sämlingwurzel wird es in Zukunft möglich sein, virus- und vektorbezogene Resistenzanteile direkt zu erfassen und ihre jeweilige Relevanz für die Rizomania-Resistenz abzuschätzen.

## 3. Einsatz der In-situ-Hybridisierung zur Untersuchung des Infektionsverlaufs an Wurzelschnitten

Zur mikroskopischen Untersuchung des Infektionsverlaufs an Wurzelschnitten wurden virus- und vektorspezifische in-situ-Hybridisierungen durchgeführt. Im Rahmen dieser Arbeiten gelang es erstmals, die in-situ-PCR-Hybridisierung für den Nachweis des BNYVV zu etablieren. Mit Hilfe dieser Methode war es möglich, die Empfindlichkeit der Virusdetektion soweit zu erhöhen, daß auch frühe Infektionsstadien des BNYVV nach *P. betae*-Übertragung erfaßt werden konnten. Ebenso konnten in resistenten Pflanzen auftretende Infektionsstellen mit geringem Virustiter durch Amplifikation vorhandener

Abschnitten der RNA 2 des Virus deutlich in Gewebeschnitten lokalisiert werden. Im Rahmen dieser Untersuchungen zeigten anfällige Pflanzen kurz nach der Inokulation mit *P. betae*/BNYVV eine gleichmäßige Virusverteilung in den Epidermiszellen der Wurzel, während in resistenten Pflanzen das Virus auf wenige Zellen lokalisiert war. Auch diese Ergebnisse deuten auf eine Teilresistenz gegenüber dem Vektor hin. Dieser Befund soll durch weitere Untersuchungen mit direkter Vektordetektion an verschiedenen Resistenzträgern abgeklärt werden. Dabei sollen die entwickelten in-situ-Hybridisierungen für Virus und Vektor so aufeinander abgestimmt werden, daß eine Detektion beider Komponenten in einem Gewebeschnitt möglich ist.

### Abstract:

Investigations on the mechanism of transmission of sugar beet viruses by *Polymyxa betae* revealed the following results:

1. *Bacillus subtilis* inhibits the transmission of beet necrotic yellow vein virus (BNYVV) by zoospores from *P. betae*. The inhibition of infection transmission by secondary zoospores makes possible the separately observation of BNYVV and *P. betae* in the plant roots.

2. The investigation of development of virus concentration and of localisation of infection focus after the inoculation with primary zoospores gave information about the Rizomania resistance against the fungus vector on sugar beet.

3. The method of in-situ-PCR-Hybridisation for the detection of BNYVV was established.

(BAZ-2106, DFG-Projekt)

In Zusammenarbeit mit: Bürgermeister, Obermeier, BBA, Inst. f. Biochemie und Pflanzenvirologie, Braunschweig

027

## 1.6. Markergestützte Selektion auf Virusresistenz bei der Gemüseeerbse (*Pisum sativum* L.)

### Marker-assisted selection for virus resistance in pea (*Pisum sativum* L.)

Kühne, T.

Für die Markergestützte Selektion von Zuchtmaterial und Wildformen der Erbse auf Resistenz gegen das samenübertragbare pea seedborne mosaic virus (PSbMV) werden in einer genomischen Bank der Erbse RFLP-Sonden mit enger Kopplung zum Resistenzlocus auf dem Chromosom 6 gesucht

For marker assisted selection of breeding material and genetic resources of pea displaying resistance to pea seedborne mosaic virus (PSbMV) RFLP probes with tight linkage to the resistance locus on chromosome 6 have to be identified in a genomic library

Das Erbsengenom enthält auf dem Chromosom 6 ein Cluster mehrerer eng gekoppelter Gene, welche Resistenz gegen verschiedene Stämme des pea seedborne mosaic virus (PSbMV) sowie gegen das clover yellow vein virus (CYVV) vermitteln.

Ziel der Arbeiten ist es, RFLP-Marker für diesen Locus zu entwickeln, mit denen eine Selektion auf Resistenz möglich wird. Zu diesem Zweck wurden in einer ersten Serie aus einer bereits 1993 erstellten genomischen Bank der Erbse (Pst I-Klonierung der DNA in das Plasmid pBluescript II SK+) durch Filterhybridisierung nach Grunstein-Hogness unter Verwendung von nick-translatierter <sup>32</sup>P-markierter Gesamt-DNA der Erbse zunächst 94 Klone mit unikalen genomischen Sequenzen selektiert. Diese Klone wurden anschließend in Southern-Analysen eingesetzt, um Restriktionslängenpolymorphismen zwischen der DNA einer anfälligen (E173) und einer PSbMV-resistenten Linie (E172) nachzuweisen. Die DNA beider Erbsenlinien war mit folgenden Restriktasen gespalten worden: BamHI, EcoRI, EcoRV, HindIII, XbaI. Von den 94 geprüften Sonden wiesen 26 in mindestens einer Enzymvariante einen Polymorphismus nach. Mit ihnen wurden nachfolgend 110 F<sub>2</sub>-Pflanzen aus der Kreuzung der beiden Linien geprüft. Nach Kopplungsanalyse mit Hilfe des Programms LINKAGE-1 konnten bislang 10 Sonden insgesamt 5 verschiedenen Kopplungsgruppen zusammen mit einer Reihe von RAPD- und Isoenzymmarkern zugewiesen werden. Ein Klon kartiert auf dem Chromosom 1. Der Klon W620 mit einer Größe von ca. 7 kb erwies sich als relativ eng gekoppelt mit dem Resistenzlocus auf Chromosom 6. Der genetische Abstand beträgt 10 cM. Um einen möglichen Einsatz dieses überraschend großen Klones als Selektionsmarker zu erleichtern, wurde zunächst nach internen Restriktionsorten gesucht. Nach Behandlung mit EcoRI/PstI wurden im Agarosegel 8 Banden, nach EcoRV/PstI - 5 und nach SacI/PstI - 2 Fragmente im Größenbereich von 0,3 bis 5,0 kb nachgewiesen. Diese wurden isoliert und nach radioaktiver Markierung mittels random priming jeweils einzeln auf ihre Eignung zum Nachweis des Polymorphismus zwischen der genomischen DNA der Elternlinien geprüft. Die geeigneten Teilstücke werden gegenwärtig kloniert und in weiterführenden Untersuchungen eingesetzt.

Abstract:

In pea a cluster of genes is located on chromosome 6 that confers resistance to different strains of pea seedborne mosaic virus (PSbMV) and clover yellow vein virus (CYVV). To develop tightly linked markers for RFLP assisted resistance screening of breeding material 94 clones were selected from a genomic library representing oligo or single copy fragments. In Southern analyses 26 of the clones detected polymorphisms between the genomic DNA of a susceptible and a resistant pea line that had been digested by the enzymes BamHI, EcoRI, EcoRV, HindIII and XbaI. After hybridisation analysis of 110 F<sub>2</sub>-plants resulting from a cross of the two parental lines and computer calculation (LINKAGE-1) the clone W620 (approx. 7 kb) seems to be linked to the resistance locus with a genetic distance of 10 cM. Several restriction fragments of the clone have been proofed for their ability to detect the polymorphism. A few of them are being recloned now for further investigations.

In Zusammenarbeit mit: Budahn, Peterka, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg 028

## 2. Elektronenmikroskopie Electron microscopy

### 2.1. Morphologische Untersuchungen des Infektionsverlaufes im Pathosystem *Podosphaera leucotricha*-Apfel an Pflanzen mit unterschiedlichem Resistenzgrad Morphological investigations on the infection process in the pathosystem *Podosphaera leucotricha*-apple in plants with different levels of resistance Ehrig, F.; Kriehoff, O.

*Determinierung des Resistenzgrades an definiertem Apfelzuchtmaterial mit unterschiedlicher Basis gegen Mehltau. Aufklärung morphologischer Resistenzursachen (Eindringungsresistenz). Rasterelektronenmikroskopische Untersuchung der Oberflächenstrukturen von Apfelblättern an In-vivo- und In-vitro-Pflanzen. Vergleich der Oberflächenstrukturen bei Pflanzen mit unterschiedlichem Resistenzverhalten*

*Determination of the resistance level of apple breeding material with different response to powdery mildew. Determination of reasons for resistance (resistance of penetration). Scanning electron microscopical studies on surface structures of apple leaves from in vivo and in vitro plants. Comparison of surface structures of plants with different resistance behaviour*

In den frühen Stadien der Infektion muß der Pilz die Barriere 'Kutikula-Epidermis' überwinden. In bisherigen Untersuchungen (Jahresbericht 1994, S. 39) konnte gezeigt werden, daß weder Kutikuladicke noch Epidermisdicke, im Gegensatz zum Mehltau bei Erdbeere und Wein, einen Einfluß auf die Resistenzausbildung haben. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen der Epidermisstruktur von Blättern verschiedener Apfelsorten und -zuchtlinien sowie von Wildformen mit unterschiedlichem Resistenzgrad ('Alkmene', 'James Grieve', 'Dülmener Rosenapfel', 'Juno', 'Jonagold', 'Idared', Pi-AM-17,60, Pi-AM-25,93, Pi-AM-25,17, Pi-AM-17,43, *Malus robusta*, *Malus zumi*) zeigten, daß die Epidermisoberfläche, bestimmt durch aufgelagerte Wachse, im Untersuchungsmaterial beträchtliche Unterschiede aufweist. Da die epidermalen Wachse neben Kutikula und Epidermis als ein potentielles Hindernis für das Eindringen des Pilze in das Blatt angesehen werden können, stellten wir die Struktur der epidermalen Wachse dem Resistenzverhalten der Sorten, Arten bzw. Zuchtlinien gegenüber. Untersucht wurde jeweils das letzte Blatt der Triebspitze nach voller Entfaltung (junges Blatt) und das jeweils sechste Blatt des Triebes (altes Blatt) nach Gefriertrocknung des Materials. Nach der Struktur der

epidermalen Wachse läßt sich das Untersuchungsmaterial in drei Gruppen einteilen (Abb. 1).

In einigen Proben fehlten epidermale Wachsauflagerungen offenbar völlig, die Oberfläche der Epidermiszellen erschien glatt (z.B. *Malus robusta*, 'Jonagold', Pi-AM-17,60) (Abb. 1a). In anderen Proben wurden wenig strukturierte, aber relativ dicke Wachsauflagerungen beobachtet (z.B. *Malus zumi*, 'Alkmene', 'Idared', 'James Grieve') (Abb. 1b). Blätter von 'Juno', Pi-AM-17,43 und 'Dülmener Rosenapfel' wiesen dicke, stark strukturierte, z.T. kristallähnliche, Wachsauflagerungen auf (Abb. 1c). Die epidermalen Wachse waren bei jungen und alten

Blättern gleich. Eine Gegenüberstellung dieser Befunde mit dem Resistenzverhalten des Materials läßt keinerlei Zusammenhänge erkennen. In der Gruppe der Pflanzen mit fehlenden Wachsstrukturen waren z.B. eine resistente Wildform (*Malus robusta*) sowie eine anfällige Apfelsorte ('Jonagold'). Das Gleiche gilt für Pflanzen, bei denen Blätter mit einer gut entwickelten Wachsstruktur gefunden wurden (anfällig: 'Idared', resistent: *Malus zumi*). Eine Voraussage für das Resistenzverhalten von Sorten, Arten bzw. Zuchtlinien ist anhand der epidermalen Wachse demnach nicht möglich. Sowohl Kutikula- und Epidermisdicke als auch die epidermalen Wachse haben beim Apfelmehltau offenbar keinen Einfluß auf

observe any relations between these parameters and the resistance level against powdery mildew.

(BAZ-2110)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz

029

## 2.2. Etablierung der elektronenmikroskopischen In-situ-Hybridisierung am System Kartoffel/PVY Establishment of the electronmicroscopical in situ hybridization in the system potato/potato virus Y

Ehrig, F.; Schubert, J.

*Nachweis definierter Nukleinsäuresequenzen in Pflanzen, Untersuchung des Replikationsvorganges und des Transportes von Pflanzenviren, Analyse von Resistenzmechanismen. Optimierung von Einbettungstechnik, Inokulationsparametern und serologischen Nachweismethoden*

*Detection of definite nucleic acid sequences in plant cell, investigation of the replication behaviour and the transport of plant viruses. Analysis of resistance mechanisms. Optimization of the embedding technique, the parameters for inoculation and serological detection methods*

Die In-Situ-Hybridisierung wird in zunehmendem Maße auch in der Elektronenmikroskopie zum Nachweis spez-

zifischer DNA- und RNA-Sequenzen auf histologischer, zellulärer und chromosomaler Ebene eingesetzt. Dabei müssen besondere Präparationsbedingungen eingehalten werden, um die Detektierbarkeit der Zielsequenzen zu gewährleisten. Dazu gehören in erster Linie die Anwendung einer optimalen Fixierungsmethode sowie der Einsatz eines geeigneten Einbettungsmittels und Markersystems für die Sonde. In vorbereitenden Untersuchungen (Jahresbericht 1994, S. 40) wurde ein Fixierungs- und Einbettungsverfahren entwickelt.

Weiterführende Arbeiten haben ergeben, daß eine Fixierung ausschließlich mit 4% Paraformaldehyd für die Detektierbarkeit der Zielsequenzen vorteilhaft ist, obwohl der Strukturverlust gegenüber einer Fixierung mit Glutaraldehyd und Osmiumtetroxid verschlechtert ist. Als optimales Einbettungsmittel hat sich LR Gold erwiesen, da es gegenüber Lowicryl K4M bei etwa gleicher Strukturhaltung eine wesentlich geringere Toxizität aufweist und, besonders bei Verwendung eines Diamantmessers,

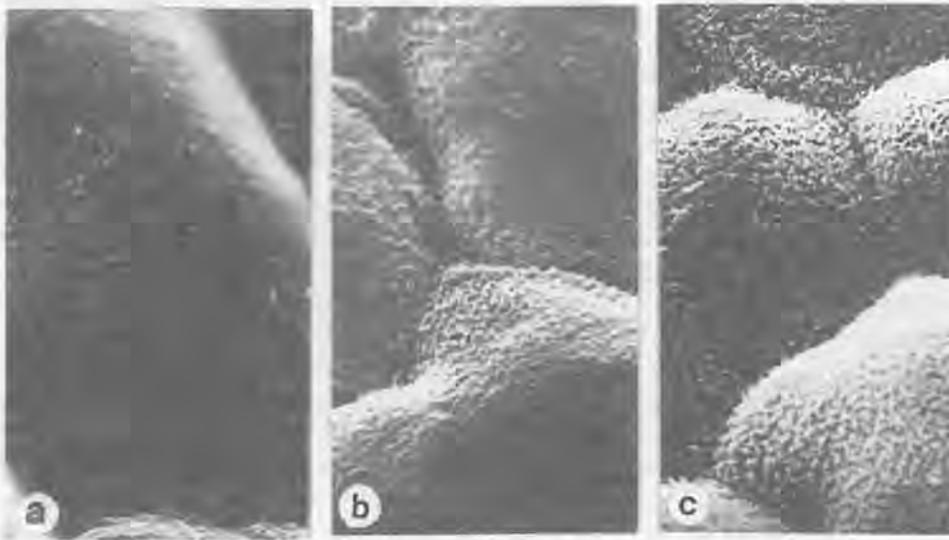


Abb 1: Epidermale Wachse auf der Oberfläche von Blättern verschiedener Apfelsorten bzw. -wildformen.

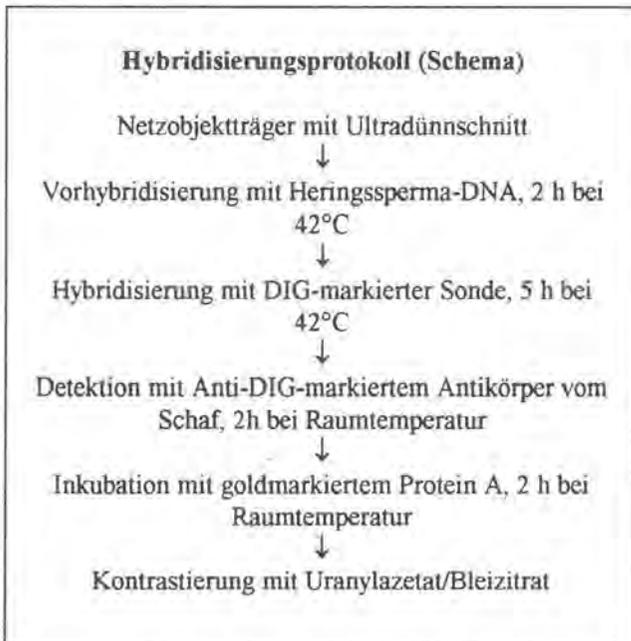
a: *Malus robusta*, b: 'Idared', c: 'Juno'

die Penetrierbarkeit der Blätter durch den Pilz.

### Abstract:

To establish an infection, the fungus must gain access the cell of the plant. We investigated the role of the cuticula and epidermis thickness as well as the structure of the epidermal waxes in the pathosystem *Podospaera leucotricha*-apple in plants with different level of resistance by scanning electron microscopy. We did not

wesentlich besser schneidbar ist. Die Ultradünnschnitte wurden auf vergoldete Kupfernetze bzw. Nickelnetze aufgenommen. Die nachfolgenden Behandlungsschritte erfolgten durch Auflegen der Netze auf Tropfen der verschiedenen Inkubationslösungen. Für die Detektion der Zielsequenz verwendeten wir eine cDNA-Sonde vom PVY, Stamm CH-605, die von einem isoliertem Insert gewonnen wurde, welches dem kompletten Hüllproteinen entspricht. Für die Markierung der Sonde werden heute vorwiegend nichtradioaktive Systeme verwendet. Gegenüber der Autoradiographie gewährleistet diese Methode eine höhere Auflösung und ist wesentlich einfacher in der Anwendung. In den eigenen Untersuchungen wurde Digoxigenin als Marker verwendet. Der Nachweis des Markers erfolgte immunelektronenmikroskopisch unter Verwendung eines goldmarkierten Antikörpers. Die Behandlung der Ultradünnschnitte erfolgt nach folgendem Schema:



Die Überprüfung der Spezifität und der Reproduzierbarkeit der Methode erfolgte an PVY-infizierten Kartoffel- und Tabakpflanzen sowie an nichtinfiziertem Material. Während in Zellen nichtinfizierter Pflanzen keine, einen normalen background übersteigende, Markierung auftrat, wurden in infizierten Pflanzen Zellen gefunden, deren Zytoplasma weiträumig deutlich markiert war. Vergleichende immunelektronenmikroskopische Untersuchungen zum Nachweis des Hüllproteins des PVY ergaben in diesen Zellen ebenfalls ein deutliches Signal, welches das Signal nach In-Situ-Hybridisierung in der Intensität wesentlich übertraf. Eine methodische Kontrolle durch Verzicht auf eine Inkubation mit dem Anti-Digoxigenin-Antikörper ergab auch in infizierten Zellen nur einen normalen background.

Eine weitere Verbesserung der Methode hinsichtlich Empfindlichkeit und Spezifität ist durch Einsatz einer preembedding-Technik und der Cryoelektronenmikroskopie zu erwarten. Dazu sind aber weitere umfangreiche methodische Untersuchungen erforderlich.

Abstract:

We describe a method for detection of PVY-nucleic acid sequences in ultrathin sections of tobacco and potato plants using digoxigenin as marker for the hybridisation probe. The material is fixed by 4% paraformaldehyd, embedded in LR Gold and cutted with a diamond knife. The labelled hybridisation probe was detected by immunoelectron microscopy using colloidal gold labelled antibodies.

(BAZ-2111)

030

### 3. Biotechnologie Biotechnology

#### 3.1. Aufklärung der Sequenz der RNA des ryegrass mosaic potyvirus (RgMV)

Sequence analysis of the RNA of ryegrass mosaic potyvirus (RgMV)

Schubert, J.; Rabenstein, F.

*Die Aufklärung der Struktur der RNA des RgMV wurde fortgeführt. Inzwischen wurde fast das vollständige Genom kloniert und sequenziert. Die Struktur des äußersten 5'-Endes muß überprüft werden. Die erhaltenen Daten sind für eine Klassifikation des Virus und Gentransferexperimente von Bedeutung*

*Investigations on the sequence of RNA of RgMV were continued. Meanwhile nearly the entire genome was cloned and sequenced. The structure of the extreme 5'-end must be checked. Sequence data are important for classification of the virus and gene transfer*

Während der ersten Etappe der Arbeiten wurde das Hüllproteingen des Virus kloniert und sequenziert. Die Sequenzdaten zeigten, daß das Virus, das bislang als type member des Genus Rymovirus gilt, falsch klassifiziert ist. Daher wurden die Arbeiten zur vollständigen Klonierung und Sequenzierung des Genoms des Virus weitergeführt, um so die Klassifikation der Gruppe der Rymoviren bzw. der milbenübertragbaren Viren überarbeiten zu können. Die verschiedenen klonierten Gene sollen auch für den Gentransfer zwecks Resistenzinduktion genutzt werden.

Inzwischen wurde fast das vollständige Genom kloniert und sequenziert. Nur die Sequenz des äußersten 5'-Terminus muß anhand vorliegender Klone noch auf Vollständigkeit überprüft werden.

Ein Strukturvergleich des RgMV mit verschiedenen Potyviren zeigt eine sehr starke Homologie mit Vertretern des Genus Potyvirus (z.B. potato potyvirus Y, PVY), nicht jedoch mit anderen Vertretern des Genus Rymovirus. Nachfolgende Abbildung 1 zeigt, daß im Bereich des Hüllproteingens bereits auf dem Nukleinsäureniveau die Homologie zwischen dem RgMV und dem wheat streak mosaic virus (WSMV) sowie dem brome streak mosaic virus (BrSMV), beides Vertreter der Rymoviren, geringer

ist als mit dem PVY, dem Typenvertreter des Genus Potyvirus.

Diese Beziehung wird noch deutlicher, wenn man den Vergleich auf dem Aminosäureniveau durchführt.

In der Tabelle 1 werden die Homologien der Sequenzen für die Bereiche NIb und cp von drei Potyviren verglichen. Klar erkenntlich ist wiederum die starke Homologie zwischen PVY und RgMV. Da diese über 40 % liegt, könnte man beide Viren zum gleichen Genus rechnen. Eine andere Möglichkeit wäre, das Virus einer eigenständigen Gruppe zuzuordnen. Ob dieser Gruppe weitere Viren zugewiesen werden können, muß anhand von Sequenzdaten geklärt werden, die jedoch noch nicht vorliegen. Die Annahme, daß das RgMV Typenvertreter des nach ihm benannten Genus Rymovirus ist, kann nicht mehr aufrechterhalten werden.

Tab. 1: Vergleich des Homologiegrades (in %) der Aminosäuresequenzen verschiedener Potyviren für die Bereiche des NIb und cp (\*- für den vergleichbaren, kürzeren Bereich des WSMV, das bisher nur teilweise sequenziert wurde; - für das gesamte NIb).

|           | NIb                  | cp |
|-----------|----------------------|----|
| RgMV/PVY  | 50 <sup>+</sup> /70* | 48 |
| RgMV/WSMV | 36*                  | 13 |
| PVY/WSMV  | 37*                  | 10 |

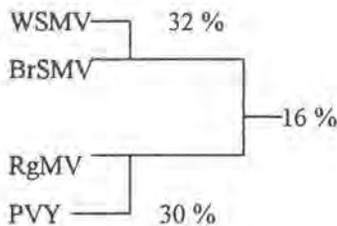


Abb. 1: Vergleich des Homologiegrades (in %) der Nukleinsäuresequenzen von Hüllproteingenen verschiedener Potyviren und des RgMV durch CLUSTAL-Analyse.

#### Abstract:

Nearly the whole genome of RgMV was cloned and sequenced. Comparison of the nucleic and amino acid sequences revealed a high degree of homology of RgMV with potyviruses of the genus Potyvirus but none with other members of the genus Rymovirus. For this reason the classification of the genus Rymovirus must be reviewed.

In Zusammenarbeit mit: Merits, Inst. of Chemical Physics & Biophysics, Tallin, Estland

031

### 3.2. Nachweis des ryegrass mosaic potyvirus (RgMV) mit Hilfe der IC-RT-PCR

#### Detection of ryegrass mosaic potyvirus by means of IC-RT-PCR

Schubert, J.; Rabenstein, F.

*Für einen sensitiven Virusnachweis in transgenen Gräsern wurde die IC-RT-PCR etabliert. Durch diese Methode kann ein empfindlicher Nachweis geführt werden, ohne daß die Ergebnisse wie beim ELISA durch eine mögliche Expression des Hüllproteins verfälscht würden*

*For sensitive detection of the virus in transgenic cereals the method of IC-RT-PCR was established. Using this method a highly sensitive detection of the virus is possible. The results will not be influenced by possible expression of the coat protein gene*

In Zusammenhang mit der beabsichtigten Testung transgener Futtergräser auf Resistenz gegen das RgMV sollte eine Nachweismethode etabliert werden, die prinzipiell auch den Nachweis des Virus über andere Strukturen als das Hüllprotein (cp) ermöglicht. Dafür bietet sich die immuno-capture-RT-PCR an. Sie basiert auf dem Einfangen von Viruspartikeln (capture), aus denen anschließend die RNA freigesetzt und durch reverse Transkription (RT) in eine cDNA umgeschrieben wird. Diese cDNA wird mit Hilfe der polymerase chain reaction (PCR) amplifiziert.

Für die Etablierung der IC-RT-PCR wurde zunächst auf Primer-Paare, die für Reklonierungen der cDNA und die Sequenzierung synthetisiert worden waren, zurückgegriffen. Es zeigte sich, daß in einigen Fällen Primer zwar mit der Nukleinsäure hybridisierten (nachgewiesen durch Einsatz der Primer für Sequenzierungen), sie aber als Paare nicht in jedem Fall für die Amplifikation geeignet waren. Primer, die synthetisiert worden waren, um Mutationen zu erzeugen, oder Paare, die zu Amplifikaten von mehr als 1500 nt führten, waren ebenfalls nicht gut geeignet. Bei einigen Primerkombinationen traten auch mit gesundem Material Banden auf. Von den möglichen Primerpaaren wählten wir für die ersten Versuche eine Kombination aus, die den core-Bereich des Hüllproteingens amplifiziert (420 nt).

Weiterhin wurde die Eignung von Zentrifugenröhrchen und ELISA-Platten verschiedener Hersteller für die IC-RT-PCR getestet. Dazu wurden diese mit 50 µl IgG eines polyklonalen Antiserums beschichtet (0,5 µg IgG/ml coating-Puffer). Es zeigten sich erhebliche Unterschiede in der Eignung der Röhrchen, die sich besonders bei geringen Viruskonzentrationen bemerkbar machten. Die besten Ergebnisse wurden mit ELISA-Platten vom Typ CovaLink der Firma NUNC erzielt. Diese ließen sich auch ohne Vorbeschichtung einsetzen. Die nachfolgende Abbildung 1 demonstriert die Eignung verschiedener Zentrifugenröhrchen und beschichteter und nicht beschichteter ELISA-Platten für den Nachweis.

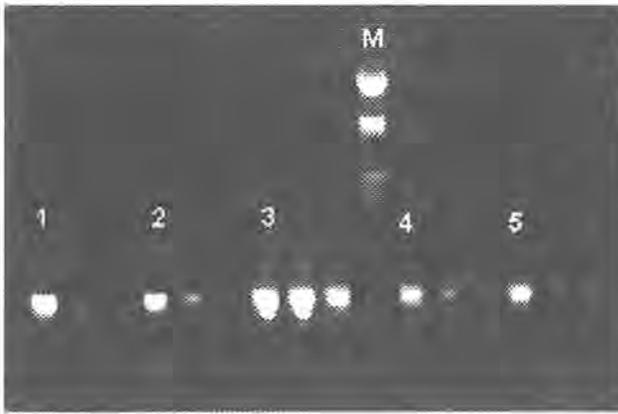


Abb.:1 Überprüfung der Eignung von 0,5 ml Zentrifugenröhrchen (1, 4, 5) und ELISA-Platten (2, 3) für die IC-RT-PCR.  
 1 - Safe lock, Fa. Eppendorf,  
 2 - nicht beschichtete ELISA-Platten,  
 3 - beschichtete ELISA-Platten, M - Marker,  
 4 - Fa. Biozym, 5 - Fa. Bibby Dunn. Eingesetzt wurden jeweils 50 µl, 5 µl und 0,5 µl Pflanzenextrakt.

In die Zentrifugenröhrchen wurden 50 µl, in die Höhlungen der ELISA-Platten 100 µl Pflanzenextrakt (1:3/w/v, in PBS-Tween 20) eingefüllt, diese über Nacht bei 4 °C inkubiert und anschließend mit PBS gewaschen. Als Enzym für die Erststrangsynthese kam M-MuLV reverse transcriptase (USB, 200 U/Ansatz) zum Einsatz. Die Reaktion lief in 20 µl PCR-Puffer mit 1 mM dNTP und dem Erststrangprimer ab. Nach zwei Stunden Inkubation bei 37 °C wurden dem Reaktionsansatz 80 µl einer PCR-Mixtur samt Zweitstrangprimer hinzugefügt (2 U Ampli-Taq). Der Amplifikationszyklus war: 1 x 2 min - 95 °C; 30 x [94 °C - 55 °C - 72 °C; je 1 min], 1 x 2 min - 72 °C. Die Ansätze aus den ELISA-Platten wurden vorher in 500 µl-PCR-Röhrchen überführt. Nach der Amplifikation wurde die DNA gefällt, in 15 µl TE-Puffer aufgenommen und elektrophoretisch in 1,2 %-igen Agarosegelen untersucht. Wie der Abbildung zu entnehmen ist, kann noch bei 400-facher Verdünnung Virus nachgewiesen werden, wobei offensichtlich die Nachweisgrenze noch nicht erreicht war. In einem parallelen Experiment ließ sich das Virus mittels DAS-ELISA hingegen auch noch bei 40.000-facher Verdünnung nachweisen.

In weiteren Versuchen sollen die optimalen Enzymmengen sowie andere Primer-Paare getestet werden, um die Empfindlichkeit des PCR-Verfahrens zu steigern.

#### Abstract:

For purposes of detection of RgMV the method of IC-RT-PCR was established. Best results were obtained with coated ELISA-plates. Further experiments are under progress to improve sensitivity of the method.

032

### 3.3. Schaffung von Konstrukten für den Transfer des Hüllproteingens des ryegrass mosaic potyvirus (RgMV) in Gräser

Generation of constructs for the transfer of the coat protein gene of ryegrass mosaic potyvirus  
 Schubert, J.

Für den *Agrobacterium tumefaciens*-vermittelten Gentransfer in Gräser wurden verschiedene Konstrukte mit einer inaktiven Form des RgMV-Hüllproteingens geschaffen. Ziel des Gentransfers ist die Erzeugung von Virusresistenz

For *Agrobacterium tumefaciens* mediated gene transfer different constructs with a inactive form of the viral coat protein gene were established. The goal of the experiments is the induction of virus resistance

Das wichtigste Schadvirus der Futtergräser ist das ryegrass mosaic potyvirus (RgMV). Natürliche Resistenzen gegen das Virus sind nicht bekannt. Sie ließen sich auch durch den komplizierten Erbgang bei diesen Pflanzenarten nur schwer handhaben. Als Ausweg bietet sich die gentechnische Erzeugung von Virusresistenz an, hier in erster Linie durch Übertragung des Hüllproteingens (cp-Gen) des Virus. Da inzwischen nachgewiesen ist, daß bei Potyviren auch das inaktive cp-Gen Resistenz vermitteln kann, wurde ein mutiertes cp-Gen erzeugt und eingesetzt. Die exakte Lage der Proteaseschnittstelle zwischen N1b und cp war zu Beginn der Arbeiten noch nicht bekannt. Aus diesem Grund wurde für die Konstruktion ein cDNA-Abschnitt ausgewählt, der, nach heutigen Kenntnissen, 261 nt (87 Aminosäuren) upstream der Proteaseschnittstelle zwischen N1b und cp beginnt und den kompletten 3'-Terminus der RNA einschließlich eines Teils des Poly-A-Schwanzes enthält. Der betreffende Bereich wurde durch PCR amplifiziert. Dabei wurden in beide Termini Restriktionsschnittstellen eingefügt. Die Amplifikate wurden kloniert und ihre Sequenz kontrolliert. Die veränderte Sequenz des 5'-Endes wird in folgender Abbildung dargestellt.

```
5' - GC GCT GTC ATG ATA GAC GCA TGG GG
5' - GC GAT/ATC ATG ATA TAG GCA TGA GG
```

Abb. 1: Sequenz des 5'-Endes der für die Erstellung der Konstrukte eingesetzten cDNA des RgMV. obere Reihe - Originalsequenz, untere Reihe - mutierte Sequenz;  
 kursiv - Start-Codon,  
 unterstrichen - Stop-Codons,  
 doppelt unterstrichen - Schnittstelle für EcoRV.

Somit folgen auf das Start-Triplett ATG zwei Stop-Codons und es kann nicht zur Ausbildung eines Proteins kommen.

Die cDNA wurde sowohl in sense- als auch antisense-Orientierung mit dem Actin-Promotor (Transkriptionsfusion) sowie einem Terminationssignal (NOS-3') gekoppelt und die resultierenden Kassetten in beiden mög-

lichen Orientierungen in die zwei binären Plasmide pGPTV-HPT (kombiniert mit GUS-i und HPT) sowie pIG 121-Hm (kombiniert mit GUS-i, NPT-II und HPT) integriert. Die verschiedenen Plasmide (acht Varianten) wurden in einen hochvirulenten *Agrobacterium tumefaciens*-Stamm transferiert. Sie erwiesen sich als stabil.

Das System konnte durch Kollegen der Universität Stuttgart-Hohenheim erfolgreich genutzt werden, um die entsprechenden Gene in *Lolium* spp. zu übertragen. In der nächsten Etappe werden die erhaltenen Pflanzen auf Resistenz geprüft und molekularbiologisch charakterisiert. Die Synthese weiterer Konstrukte unter Nutzung anderer Gene wurde begonnen.

Abstract:

Different binary plasmids with a nontranslatable form of the RgMV-cp, in sense and antisense orientation, were constructed. The cp-gene is under the control of the actin-promoter. Using a highly virulent strain of *Agrobacterium tumefaciens* ryegrass could be transformed. The resistance of the regenerated plants will be tested.

In Zusammenarbeit mit: Posselt, Wang, Univ. Stuttgart-Hohenheim

033

### 3.4. Untersuchungen zur In-vitro-Depothaltung von Kartoffel- und anderen Pflanzenviren, Virusstämmen und -isolaten

**Investigations on in vitro storage of potato and other plant viruses, virus strains and virus isolates**

Barchend, G.

Es soll getestet werden, ob es möglich ist, Pflanzenviren mit In-vitro-Techniken zu kultivieren. Dabei sollten vorrangig Virus/Wirtkombinationen untersucht werden, wo die Viren mechanisch nicht oder nur schwer zu übertragen und zu erhalten sind bzw. die mit konventionellen Methoden nicht konserviert werden können. Dabei soll der Arbeitsaufwand bei der Haltung gesenkt werden, die Reinheit und der schnelle Zugriff gesichert werden. Etablierung der virusanfälligen In-vitro-Pflanzen. Infektion der In-vitro-Pflanzen unter kontaminationsfreien Bedingungen mit dem Virus bzw. den Vektoren. Der Virustiter wird über einen längeren Zeitraum mittels ELISA untersucht.

Investigations of the possibility to cultivate plant viruses by in vitro techniques, especially with virus/host combinations which allow only a poor mechanical transmission of viruses or no transmission at all and where it is impossible to store the viruses by conventional methods. The new method should reduce the labour requirements for maintenance and purity of virus isolates and quarantine their availability. Establishment of in vitro plants susceptible to infection by viruses or viruliferous vectors under sterile conditions. Determination of the virus titre by ELISA over a longer period.

Seit 1992 werden verschiedene Virusisolate von PVM, PVS, PVX und PVY aus dem Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz der BAZ auf In-vitro-Kartoffelpflanzen kultiviert. Der Zusatz von 3 % Mannit zum Kulturmedium machte es möglich, daß die Pflanzen nur alle sieben bis acht Monate statt wie bisher nach sieben bis acht Wochen umgesetzt werden mußten. Bei jeder Verklonung erfolgte eine serologische Testung mittels ELISA, und in allen Depotpflanzen konnten die Kartoffelvirusisolate noch nach 40 Monaten problemlos nachgewiesen werden. Nach einer Depotkultivierung von 36 Monaten wurden mit dem PVY-D884 infizierte In-vitro-Kartoffelpflanzen in die Erdkultur überführt und mittels DAS-ELISA der Virusgehalt geprüft. Es erfolgte je eine Probenahme 4 und 8 Wochen nach der Aussaat. Das PVY war zu beiden Terminen in der gesamten Pflanze nachweisbar. Weiterhin wurden Tabakpflanzen, *Nicotiana tabacum* 'Samsun', mit PVY-D884 vom Depotmaterial inokuliert. Es sollte getestet werden, ob es möglich ist, mit Virusisolaten, die über einen längeren Zeitraum im Depot gehalten worden waren, Testpflanzen zu infizieren. Auch in diesem Fall wurden keine Einschränkungen in der biologischen Aktivität beobachtet.

Abstract:

Since 1992, different virus isolates of potato virus M (PVM), PVS, PVX and PVY were cultivated on in vitro plants. The virus could still be detected by means of DAS-ELISA after a period of 40 months in depot. In three plants carrying PVY and put in soil the virus was detectable within the whole plant. Furthermore, it was possible to inoculate *Nicotiana tabacum* 'Samsun' with a PVY-isolate

(BAZ-2112)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz 034

### 3.5. Übertragung definierter Sequenzen des Potato virus Y PVY-Hüllproteingens in Zellen von Solanaceen mittels indirekter Transfermethoden zur Erzeugung von Virusresistenz

**Transfer of defined sequences of the potato virus Y PVY cp-gene into Solanaceae cells using indirect methods of gene transfer for the production of virus resistance**

Barchend, G.; Schubert, J.

Erzeugung PVY-resistenter Pflanzen. Aufklärung grundlegender Vorgänge bei gentechnisch erzeugter Präimmunität mit dem Ziel der Etablierung von Mehrfachvirusresistenzen. Varianten des *Agrobacterium tumefaciens*-vermittelten Gentransfers zur Übertragung unterschiedlicher cp-Gen-Sequenzen

Generation of PVY resistant plants. Investigation of fundamental mechanisms leading to genetically engineered cross protection with the aim to generate multiple resistance. Variants of the *Agrobacterium tumefaciens*

*mediated gene transfer of various coat protein gene sequences*

Es wurden Kartoffelgenotypen mittels *Agrobacterium tumefaciens* mit zwei unterschiedlichen Konstrukten transformiert, wobei ein Plasmid das NPT-II-Gen und das andere die Genkombination PVY-cp/GUS-i enthielt. Bei den ersten Transformationsversuchen (Barchend, Schubert, Jahresbericht BAZ, 1994) wurde mit dem *A. tumefaciens*-Stamm GV 3101 gearbeitet. Dabei entstanden bei der Kotransformation Transformanten, die die Kassetten beider Plasmide enthielten. Bei der separaten Transformation waren zwar kanamycinresistente Klone zu beobachten, aber keine Klone, die das PVY-cp/GUS-i aufwiesen.

Unsere Untersuchungen hatten gezeigt, daß es möglich ist, die auf zwei binären Plasmiden befindlichen Gene gleichzeitig in eine Zelle zu übertragen. Das NPT-II-Gen ist lediglich als Selektionsmarker für die Transformation und nicht für die Vermittlung der Hüllproteinresistenz notwendig. Im weiteren Zuchtprozeß müßte es ausgekreuzt werden, um freizusetzendes Material nicht unnötig mit Antibiotikaresistenzen zu belasten. Deshalb versuchten wir bei weiteren Transformationsexperimenten, nochmals nur das PVYcp/GUS-i zu übertragen. Dazu wurde der *A. tumefaciens*-Stamm EHA 105 sowohl zur Kotransformation (NPT-II+PVY-cp/GUS-i) als auch nur zur Übertragung des PVY-cp/GUS-i in die dihaploide Kartoffellinie C (DHL C) verwendet. Die Regeneration der Explantate nach der Kokultivierung erfolgte bei Mischung beider Konstrukte (im Verhältnis von 1:1) auf kanamycinhaltigem Medium. Die dabei erhaltenen 698 Regeneratpflanzen wurden auf die Expression des GUS-Gens getestet. In 155 von 698 Pflanzen waren sowohl das NPT-II Gen als auch das PVY-cp/GUS-i nachweisbar. Die Explantate der Transformation nur mit dem PVY-cp/GUS-i wurden dagegen auf kanamycinfreiem Medium kultiviert. Bei 13 von 727 erhaltenen Regeneraten konnte eine GUS-Aktivität nachgewiesen werden. Die Transformationsrate lag im Fall der Kotransformation bei 22 % und bei alleiniger Transformation mit dem Hüllproteingen bei 2 %. Die transgenen Pflanzen werden in die Resistenzprüfung gegen das PVY einbezogen.

**Abstract:**

Potato genotypes were transformed with *Agrobacterium tumefaciens* strain EHA 105. The constructs NPT-II and PVY-cp/GUS-i were cotransferred. Furthermore, a separate transfer of PVY-cp/GUS-i into a dihaploid line was carried out. 155 out of 698 explantates regenerated after cotransformation on a kanamycin containing medium. The separate transfer of the coat protein resulted in only 13 out of 727 regenerates that expressed the GUS gene. The rate of the cotransformation was 22 % and that of the PVY-cp transformation 2 %.

(BAZ-2114)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz 035

**3.6. Prüfung transgener Kartoffelpflanzen auf Resistenz gegen das Potato virus Y (PVY)  
Evaluation of transgenic plants for resistance to potato virus Y (PVY)**

Barchend, G.

*Nachweis der Expression von übertragenen Fremdgenen (Markergene, Hüllproteingene). Einschätzung der erzielten Virusresistenz. Bestimmung von Enzymaktivitäten, Proteingehalten, Hüllproteingen und der Virusresistenz unter Gewächshaus- und Freilandbedingungen.*

*Detection of the expression of transferred foreign genes (marker genes, coat protein genes), evaluation of the resistance obtained. Determination of enzyme activities, protein content, coat protein and virus resistance under greenhouse and field conditions.*

Mehrere Kartoffelgenotypen wurden mit dem Hüllproteingen des PVY (PVY-cp) mittels *Agrobacterium tumefaciens* transformiert. Als Selektionsmarker wurden das NPT-II- und das GUS-i-Gen verwendet. Es kamen transgene Pflanzen zur Resistenzprüfung, die bei einer Kotransformation mit zwei Plasmiden mit NPT-II-Gen + PVY-cp/GUS-i-Gen entstanden sind. Bei ausgewählten Pflanzen konnte mit spezifischen Primern das cp-Gen des PVY mittels PCR-Technik nachgewiesen werden.

Die erhaltenen transgenen Regeneratpflanzen wurden im Gewächshaus in eine Erdkultur überführt. Etwa drei Wochen nach dem Auspflanzen erfolgte unter standardisierten Bedingungen (20 ... 22 °C) die mechanische Inokulation (1:1 mit Blattmaterial von *Nicotiana tabacum* 'Samsun'). Je Klon und PVY-Isolat (PVY-D884 und PVY-CH 605) wurden 10 Kartoffelpflanzen geprüft. Mittels DAS-ELISA erfolgte nach 21 Tagen die Testung der inokulierten Blätter und nach 42 Tagen die der Folgeblätter. Bisher wurden 8 Klone der Sorte 'Kamyk', 7 Klone der dihaploiden Linie B (DHL B) und 47 Klone der DHL C auf Resistenz gegen das PVY untersucht. Ein Klon erwies sich dabei als nicht infizierbar, 3 Klone zeigten Ausbreitungsresistenz (recovery resistance) und 7 Klone einen deutlich geringeren Befall als die nicht transformierten Genotypen (Tab.1). Auftretende geringe Unterschiede im Resistenzverhalten der transgenen Pflanzen gegenüber den zwei PVY-Isolaten waren nicht signifikant. Bei einigen Klonen konnte zwar in den inokulierten, aber nicht in den Folgeblättern das PVY nachgewiesen werden. Um zu prüfen, ob es sich tatsächlich um eine Ausbreitungsresistenz handelt, erfolgte ein biologischer Rücktest von Klonen der DHL C auf *N. tabacum* 'Samsun'. Die serologische Testung der Tabakblätter ergab, daß in 3 von 8 untersuchten Kartoffelpflanzen das PVY nachweisbar war. Man muß also davon ausgehen, daß die Ausbreitung des Virus nicht in jedem Fall verhindert, aber deutlich verlangsamt wird und die Vermehrung stark gehemmt zu sein scheint. Von den Pflanzen, die ein deutlich verbessertes Resistenzverhalten als die nichttransformierten Genotypen zeigten, wurden Knollen geerntet. Der Nachbau dieser Klone soll dann wiederum einer Resistenzprüfung unterzogen werden.

um die Stabilität der gentechnisch erzeugten Resistenz zu testen.

Tab.1: Ergebnisse der Resistenzprüfung transgener Kartoffelpflanzen gegen PVY-Isolate

| Genotyp / Sorte            | Anzahl nicht infizierter Pflanzen von 10 geprüften Pflanzen |                 |                 |                 |
|----------------------------|---|-----------------|-----------------|-----------------|
|                            | PVY-D884  |                 | PVY-CH 605      |                 |
|                            | 0 <sup>a)</sup>   | 0 <sup>b)</sup> | 0 <sup>a)</sup> | 0 <sup>b)</sup> |
| DHL C (nichttransformiert) |   |                 |                 |                 |
| DHL C Klon 20              | 10  | 10              | 10              | 10              |
| DHL C Klon 19              | 9   | 10              | 7               | 10              |
| DHL C Klon 2               | 6   | 7               | 8               | 10              |
| 'Kamyk' Klon 3             | 7   | 7               | 8               | 8               |

<sup>a)</sup> inokulierte Blätter

<sup>b)</sup> Folgeblätter

Abstract:

Dihaploid potato genotypes were cotransformed with two different constructs by means of *Agrobacterium tumefaciens*. The plasmids used for this carried the NPT-II-gene and the gene combination PVY-cp/GUS-i, respectively. 20 % of the transgenic plants selected contained the coat protein gene and the GUS-gene. Up to now the resistance behaviour of 62 clones after mechanical inoculation was tested using the isolates PVY-D884 and PVY-CH 605. One clone could not be infected, three clones showed recovery resistance, seven clones exhibit a significant lower disease level than the non transformed genotypes.

(BAZ-2117)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz

# Institut für Pathogendiagnostik

## Institute for Pathogen Diagnostics

Aschersleben

Das Institut für Pathogendiagnostik hat die Aufgabe, die Virulenz von biotischen Schaderregern zu erfassen und Methoden zur Identifizierung von Schaderregern in Pflanzen zu entwickeln. Das Institut unterhält eine Pathogenbank für pflanzenschädigende Bakterien sowie eine Sammlung diagnostischer Antisera.

The Institute for Pathogen Diagnostics investigates the pathogenity and virulence of pathogens and develops methods for pathogen identification in plants. The institute maintains a culture collection of plant pathogenic bacteria and updates a collection of polyclonal antisera and monoclonal antibodies for detection of plant pathogenic viruses and microorganisms.

### 1. Allgemeine und Molekulare Diagnostik

#### General and Molecular Diagnostics

#### 1.1. Entwicklung von Nachweis- und Differenzierungsmethoden für das Ryegrass mosaic virus in Futtergräsern

Development of methods for detection and differentiation of the ryegrass mosaic virus in forage grasses

Proll, E.; Rabenstein, F.; Proeseler, G.

*Entwicklung eines Schnelltestes für die Virusdiagnose in Futtergraszuchtlinien; Charakterisierung von verschiedenen virulenten Virusisolaten; Ermittlung von Resistenzressourcen; Isolategewinnung, Herstellung und Charakterisierung polyklonaler Antisera und monoklonaler Antikörper gegen verschiedene Isolate; ELISA-, EBLA-Technik und Immunelektronenmikroskopie; Analyse von Lolium-Zuchtmaterial aus verschiedenen Zuchtgärten*

*Development of a rapid-test for virus diagnosis in breeding material of forage grasses; characterisation of virus isolates with different virulence; getting of data for resources of resistance; production and characterisation of polyclonal antisera and monoclonal antibodies against different virus isolates, ELISA-, EBLA-techniques and immunoelectron microscopy; analysis of breeding material from different breeding stations*

Die Untersuchungen zur Differenzierung und Charakterisierung von RMV-Isolaten wurden fortgesetzt. Eine eindeutige Unterscheidung der insgesamt 12 Isolate aus 7 Ländern an Hand der Wirtsreaktion gelang weder unter Gewächshaus- noch unter Klimahausbedingungen. Mit Hilfe eines Sortimentes von Haferarten und -zuchtlinien konnten aber reproduzierbare Virulenzunterschiede (Infektions-

erfolg, rel. Viruskonzentration) nachgewiesen werden (Abb. 1).

Das australische Isolat war am wenigsten, ein dänisches Isolat am stärksten virulent. Letzteres setzten wir deshalb zur Resistenzevaluierung verschiedener *Lolium*-Sorten ein. Nach umfangreichen serologischen Testen unter Verwendung polyklonaler Antisera und monoklonaler Antikörper ergaben sich im Western blot zwischen einigen Isolaten charakteristische Unterschiede.

Das Isolat aus Bulgarien zeigte als einziges stets eine deutliche Hüllproteindoppelbande (44...45kd und 45...46kd), während alle übrigen an dieser Position nur eine einfache Proteinbande (45...46kd) hatten.

Besonders auffällig war, daß in Haferpflanzen und besonders im virushaltigen Rohsaft (in vitro) eine schnelle Abspaltung der C- und N-terminalen Peptidketten vom

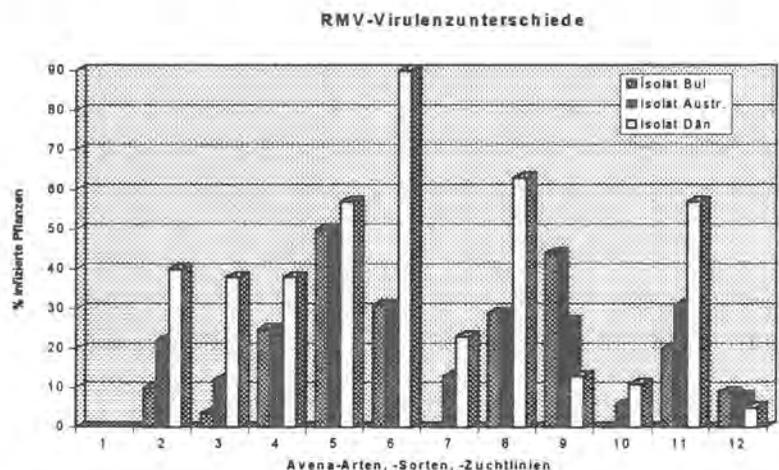


Abb. 1: Differenzierung von RMV-Isolaten mit Hilfe eines Hafersortimentes

Virushüllprotein stattfindet. Einige Isolate zeigten hierbei charakteristische Bandenmuster im Western blot, die zu einer weiteren Differenzierung genutzt werden konnten. Nach 24 bis 48 Stunden Inkubation des Rohsaftes bei Raumtemperatur war bei allen Isolaten nur noch eine Proteinbande mit ca. 29...30kd nachzuweisen. Für die

Untersuchungen zur serologischen Kreuzreaktivität von Mitgliedern der Rymovirus-Gruppe wurden polyklonale Antisera gegen AgMV, BrSkMV, HoMV, ONMV und WSMV hergestellt. AgMV und HoMV sowie WSMV und ONMV zeigen eine serologische Verwandtschaft, während BrSkMV nicht mit anderen Rymoviren verwandt ist. Der Nachweis des RMV in *Lolium*-Arten konnte im Vergleich zum Standard-DAS-ELISA mit polyklonalen Antisera wesentlich verbessert werden durch Verwendung des monoklonalen Antikörpers MAB 4G12 im TAS-ELISA und des fluoreszierenden Substrates AttoPhos. Diese Steigerung der Testempfindlichkeit ist besonders wichtig, wenn das Virus in teilresistentem Zuchtmaterial erfaßt werden soll.

#### Abstract:

We continued our studies for differentiation and characterization of rye grass mosaic virus (RMV) isolates. A distinct differentiation of 12 isolates by means of host reaction in a climatic chamber or in the greenhouse, respectively, was impossible. Some isolates differed in virulence (relative virus concentration and rate of infection). For resistance evaluation of *Lolium* breeding material we used the most virulent isolate from Denmark. By western blot technique it was possible to differentiate between RMV-isolates. For the isolate from Bulgaria it was typical to show a double band of core protein (44...45kd and 45...46kd). All other isolates showed only a simple core protein band at the same position of the blot. With different serological methods we established cross-reactivity between members of the rymovirus-group. Using the monoclonal antibody 4G12 in combination with the fluorescent substrate AttoPhos in TAS-ELISA the sensitivity of the test could be improved. (BAZ-2205)

In Zusammenarbeit mit: Schubert, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben; Huth, Lesemann, Vetten, BBA, Braunschweig  
037

### 1.2 Nachweis von Potyviren mit serologischen und molekularbiologischen Methoden in *Brassica*-Arten

**Detection of potyviruses by serological and molecularbiological methods in *Brassica*-species**  
Leistner, H.-U.; Proll, E.

*Entwicklung eines empfindlichen Schnelltestes für die Frühdiagnose und -selektion in In-vitro-Systemen (somatische Hybriden), Regeneratpflanzen sowie zum Screening von Basismaterial für den Zuchtprozeß; Herstellung und Charakterisierung von polyklonalen Antisera und monoklonalen Antikörpern; Etablierung der PCR-Technik; histologischer Test zur Differenzierung von Virusisolaten unterschiedlicher Virulenz sowie Brassica-Genotypen unterschiedlicher Anfälligkeit bzw. Resistenz.*

*Development of a sensitive rapid-test for the early diagnosis and selection in in vitro systems (somatic hybridization), regenerated plants as well as for screening of*

*basis material for the breeding process; production and characterization of polyclonal antisera and monoclonal antibodies; establishment of the PCR-techniques; histological test for the differentiation of virus isolates of different virulence as well as Brassica genotypes of different susceptibility and resistance, respectively*

Das turnip mosaic virus (TuMV) kann bei verschiedenen Kohlgemüsearten erhebliche Ertragsausfälle (z.B. bei Weißkohl bis zu 30 %) und Qualitätseinbußen verursachen. Bei der Evaluierung von *Brassica*-Genotypen zur Erstellung von TuMV-resistentem Basismaterial ist es erforderlich, über geeignete Schnelltests zu verfügen. Potyviren, zu denen das TuMV gehört, sind dazu in der Lage, im Verlaufe des Infektionsprozesses in den Wirtspflanzenzellen zytoplasmatische Proteineinschlußkörper (sogenannte pin wheels) zu induzieren. In unseren Untersuchungen soll überprüft werden, inwieweit diese viruscodierten Strukturen dafür geeignet sind, Wirtspflanzen genotypen unterschiedlicher Anfälligkeit voneinander zu differenzieren. In ersten Arbeiten hierzu wurden anhand von Epidermisabrissen infizierter Blätter die ausgebildeten Einschlußkörper lichtmikroskopisch nach Färbung in einer 0,5%igen Bromphenolblaulösung quantitativ erfaßt. In diese Versuche wurden folgende Genotypen einbezogen: Weißkohl 'Impala' (virustolerant), 'Erdeno' (hochanfällig); Wirsingkohl 'Vorbote' (mäßig resistent); Chinakohl 'Asko' (hochanfällig). Diese wurden mit jeweils 2 verschiedenen TuMV-Isolaten, dem hochvirulenten Isolat 2 und dem schwach virulenten Isolat 14, infiziert. Die Probennahme erfolgte im wöchentlichen Abstand, beginnend mit 7 dpi, wobei jeweils Mehrfachproben von jüngeren und älteren Blättern untersucht wurden. Parallel zu den histologischen Tests wurden Proben für den indirekten ELISA genommen. Zur Quantifizierung lichtmikroskopisch nachweisbarer Proteineinschlußkörper wurde der prozentuale Anteil der Zellen, die diese Strukturen enthalten, bezogen auf eine definierte Flächeneinheit, ermittelt. Die in diesen Untersuchungen erhaltenen Ergebnisse ließen keine Korrelation, sowohl zur Virulenz der eingesetzten Virusisolate als auch zum Pflanzenmaterial unterschiedlicher Anfälligkeit, erkennen. Auch im zeitlichen Ablauf des Infektionsprozesses sind keine eindeutigen Tendenzen bei der Ausbildung von cytoplasmatischen Einschlußkörpern erkennbar. Die histologischen Befunde korrelieren letztlich auch nicht mit der durch den ELISA-Test ermittelten Viruskonzentration im Blattmaterial. Die vorhandenen Ergebnisse lassen es somit als fraglich erscheinen, die Konzentration von cytoplasmatischen Einschlußkörperproteinen im Blattmaterial der infizierten Wirtspflanze als geeignetes Kriterium für die Evaluierung verschiedener *Brassica*-Genotypen zur Selektion virusresistenten Basismaterials heranzuziehen.

#### Abstract:

Turnip mosaic virus (TuMV) causes in different cabbage-species considerable losses in yield and quality. For eva-

luation of different *Brassica*-genotypes it is necessary to have suitable quicktests to get TuMV resistant material. In our investigations it was proofed if the virus-encoded cytoplasmatical inclusion bodies ('pin wheels') are suited for a differentiation of host plant genotypes with different susceptibilities. By quantitative detection of the occurrence of these structures in the epidermal tissue of leaves different cabbage-genotypes were investigated, which were inoculated with 2 TuMV-isolates. Parallel to this histological test samples were taken for indirect ELISA. The results of these investigations don't allow any correlation between the frequency of the occurrence of these protein inclusion bodies and the susceptibility of the host plants as well as the virulence of the pathogen. There was also no correlation between the histological results and the virus concentration, detected by ELISA-test. (BAZ-2204)

In Zusammenarbeit mit: Krämer, R., BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg 038

### 1.3. Erarbeitung von Methoden zur Erfassung des latenten Befalls von Kartoffeln mit *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*

#### Development of methods for detection of the latent incidence of potato plants by *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*

Zielke, R.; Naumann, K.

Entwicklung praktikabler Verfahren zur Erfassung von *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in äußerlich gesund erscheinenden Kartoffelpflanzen zur Gewinnung von erregerefreiem Zuchtmaterial; Erprobung verschiedener Anreicherungsverfahren (bakteriologische, physikalische); Optimierung immunologischer Nachweismethoden; Anwendung molekularbiologischer Methoden (PCR-Technik)

Development of suitable methods for detection of *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in healthy appearing potato plants to get pathogen-free breeding material; comparison of different enrichment techniques (bacteriological, physical); improvement of serological methods; application of molecular-biological methods (PCR-techniques)

Die Untersuchungen zur Erfassung des latenten Befalls von Kartoffeln mit dem Naßfäulebakterium *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* wurden fortgesetzt. Dabei sind insbesondere vier unterschiedliche Nachweisverfahren favorisiert und an einem umfangreichen Test- und Zuchtmaterial auf ihre Reproduzierbarkeit analysiert worden. Die Versuche hatten insbesondere das Ziel, diese Methoden zu standardisieren, um eine eindeutige Reproduzierbarkeit abzusichern. Es sind die im folgenden genannten Methoden:

1. Erfassung der Erregerpopulation in den Lentizellen der Knollenschale sowie im Gewebe des Nabelendes.

Von 10 gesunden, gewaschenen und rückgetrockneten Kartoffelknollen werden dabei sowohl am Nabel als auch von der Schale ca. 0,8...1,0 g Material entnommen, je-

weils getrennt homogenisiert, filtriert und das Filtrat 12 h schüttelinkubiert. Anschließend folgt der DAS-Elisa als Nachweismethode.

2. Provokation der in der Knollenschale befindlichen Lentizellen mit Bestimmung der Fäuleintensität.

Bei den in gleicher Weise vorbehandelten Kartoffeln werden mit sterilen Nadeln die gut sichtbaren Lentizellen etwa 1...2 mm tief angestochen (40 Lentizellen über die gesamte Knollenoberfläche verteilt). Jede derart verletzte Kartoffel wird einzeln in nassen Zellstoff unmittelbar nach der Provokation eingepackt und in dicht schließende Plastikboxen bei 25 °C inkubiert. Nach 48- und 72stündiger Lagerung werden sowohl Anzahl gefaulter Lentizellen als auch Fäuleausbreitung bonitiert.

3. Prüfung des Kartoffelgewebes auf Anfälligkeit gegenüber dem Naßfäuleerreger *E. carotovora* subsp. *atroseptica*.

Oberflächlich gewaschene und sterilisierte Kartoffeln werden mittels Kreuzschraubendreher verletzt (ca. 7 mm tief, 7 mm oberer Durchmesser) und mit einem Bakteriengemisch aktueller, hochvirulenter *Erwinia*-Isolate inokuliert (ca. 0,05 ml Suspension mit einer Konzentration von  $5 \times 10^8$  cfu/ml). Die auf diese Weise behandelten Knollen werden in einer mit nassem Filterpapier ausgekleideten Plastikbox bei 25 °C 5 Tage aufbewahrt. Die Auswertung erfolgt an der durch die Inokulationsstelle gelegte Schnittfläche, wobei Nekrotisierung und Fäule erfaßt werden.

4. Bestimmung der Anfälligkeit von Kartoffelsprossen gegenüber dem Naßfäuleerreger.

Von jeder zu prüfenden Kartoffelprobe werden 8 bis 10 Kartoffeln (ungewaschen) in mittelgroße Töpfe unter Klimahausbedingungen (ca. 20 °C) gehalten. Bei etwa 5 bis 7 cm Sproßlänge werden alle Pflanzen auf 3 Triebe/Topf einheitlich eingeeengt und bis zu einer Sproßlänge von 15 cm weiterkultiviert. Nach Erreichen der Wuchshöhe erfolgt eine Inokulation über die stengelmitige Blattachsel in den Sproß ( $1 \times 10^7$  cfu/ml; 0,75 ml/Sproß); dabei sollte das Bakteriengemisch analog dem der Knollenprüfung zusammengesetzt sein. Die Testauswertung wird nach 10 ... 12 Tagen vorgenommen. Dabei ist sowohl die äußerlich sichtbare Schwarzbeinigkeit als auch die nach dem Aufschneiden des Triebes vorhandene Ausbreitung der Fäule auszumessen.

Die hier genannten, sehr einfachen und in jedem Kartoffelzuchtbetrieb praktikablen Prüfverfahren haben im Versuchsjahr eine recht gute Übereinstimmung mit den an anderer Stelle durchgeführten Resistenzermittlungen ergeben. Zur Absicherung der Ergebnisse werden die Versuche im folgenden Jahr modifiziert wiederholt.

Zum Nachweis der Bakterien in den Sprossen wurde ein größerer Feldversuch mit gestaffelter, definierter Pflanzgutverseuchung durchgeführt. Dieser Versuch wird im kommenden Jahr noch einmal angelegt, um abschließende Ergebnisse zu erhalten.

Abstract:

The studies to detect latent infections of the soft rot bacterium *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* were

continued. Because the bacteria in the lenticells and in the navel-end represent the most dangerous infective potential, we applied four methods for detection and for resistance screening:

1. The evidence of the bacterial cells in the lenticells and in the navel-end by the DAS-ELISA.
2. Wounding of lenticells by sterile needles. In this case 40 lenticells over the tuber were injured in the deep of 2 mm and the tubers were incubated in a humidified atmosphere at 25 °C for 48 to 72 h.
3. Mechanically wounding of tubers and following inoculation with a bacterial mixture of different virulent *Erwinia* isolates. A hole of 7 mm deep and 7 mm wide was made with a sterilized screwdriver.
4. Inoculation of the stems of potato tubers. Stems of potted plants (three stems/pot) at 15 cm high were inoculated 7,5 cm above soil level by picking the stem by a needle ( $1 \times 10^7$  cfu/ml; 0,75 ml/stem).

This analyses will be continued in the next year.

(BAZ-2206)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz 039

#### 1.4. Entwicklung von Verfahren zum Nachweis von *Erwinia chrysanthemi*

##### Development of methods for detection of *Erwinia chrysanthemi*

Naumann, K.; Zielke, R.

*Entwicklung geeigneter Erfassungs- und Identifizierungsmethoden zur Überwachung von Kartoffel- und Zierpflanzenmaterial; Gewinnung von Daten über das Vorkommen und die Verbreitung des Erregers im deutschen Kartoffel- und Zierpflanzenbau und insbesondere im Ausgangsmaterial; Entwicklung und Erprobung von Selektivnährböden; Entwicklung und Erprobung eines Biotests; Analyse von Kartoffel- und Zierpflanzenmaterial aus verschiedenen Anbaugebieten*

*Development of suitable detection and identification methods for analysing potato and ornamental plant material; getting of data concerning the occurrence and the distribution of the pathogen in German potato and ornamental crops, especially in breeding material; application of serological methods; development and testing of bioassays; analysis of potato and ornamental plant material from different locations*

Als weitere mögliche Indikatorpflanze für den Nachweis von *Erwinia chrysanthemi* wurde *Kalanchoe blossfeldiana* in das Testprogramm einbezogen. Bei Inokulationsversuchen mit dieser Pflanze wurden große Virulenzunterschiede zwischen den bisher geprüften Erregerherkünften (Stämme aus mehreren Kultursammlungen) festgestellt. Neben hochvirulenten Isolat (DSM 30179, PD 483 und PD 551) gab es solche, die eine sehr lange Inkubationszeit hatten und schwächere Symptome induzierten (z. B. PD 1680) und andere, die sich als avirulent erwiesen (PD 550). Bei hochvirulenten Isolat reagierte diese Testpflanze äußerst heftig mit Welke (Einrollen der

Blätter) und raschem Absterben. Wegen des selektiven Anfälligkeitsverhaltens gegenüber den geprüften Erregerisolat kann *K. blossfeldiana* aber nur als zusätzliche Indikatorpflanze für den Nachweis dieses Erregers Verwendung finden. Mehrere Sorten von *Chrysanthemum maximum* und *Saintpaulia ionantha* erwiesen sich dagegen als anfällig für alle geprüften Isolate, wobei die Krankheitssymptome bei *Chrysanthemum* besser zu erfassen sind als bei *Saintpaulia*. Bei Freilandversuchen mit künstlich infizierten Pflanzkartoffeln zeigten sich bei zahlreichen Pflanzen deutliche, aber unspezifische Welkesymptome. Im Gegensatz zum vorhergehenden Versuchsjahr traten 1995 aber kaum Pflanzen mit dunkel verfärbtem Stengelgrund auf, wie sie für die Schwarzbeinigkeit (Erreger: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) typisch sind, d. h., die *E. chrysanthemi*-Symptome waren gut von denen der Schwarzbeinigkeit zu unterscheiden. Die unterschiedliche Symptomausprägung in den beiden Versuchsjahren könnte auf die unterschiedlichen Witterungsbedingungen (besonders große Trockenheit 1995) oder auf eine stärkere Primärbelastung des Pflanzgutes mit *E. carotovora* subsp. *atroseptica* im Versuchsjahr 1994 zurückzuführen sein. Die stärksten Krankheitserscheinungen traten wiederum nach Inokulation mit den Isolat DSM 30179, PD 483 (beide stammen von Kartoffel) und PD 551 (Herkunftspflanze *Kalanchoe*) auf; die Kartoffelisolate 4002 sowie 4039 verursachten dagegen kaum Schäden. Unter den drei geprüften Sorten erwies sich 1995 'Karatop' als besonders anfällig für *E. chrysanthemi*, während 1993 und 1994 'Koretta' den höchsten Befall zeigte. 1995 wurde im Freiland auch erstmals die Anfälligkeit von Maispflanzen für die verschiedenen Erregerisolate geprüft. Die Inokulation erfolgte in wöchentlichem Abstand in den Stengel; die Inokulumdichte betrug  $> 10^9$  Zellen/ml. Ein Teil der infizierten Pflanzen zeigte deutliche Nekrosen am Stengel sowie anormalen Blattaustrieb; teilweise kam es zum Wachstumsstillstand. In minder schweren Fällen erholten sich die Pflanzen nach einiger Zeit wieder. Die stärkste Symptomentwicklung trat nach Inokulation von jungen Maispflanzen ein. Ein in die Untersuchungen mit einbezogenes Erregerisolat von Mais (4019) verursachte nur schwache Krankheitserscheinungen an dieser Testpflanze. Inwieweit sich Mais unter Gewächshausbedingungen als Indikatorpflanze eignet, müßte noch geprüft werden. Insgesamt zeigten die Untersuchungen zur Eignung verschiedener Indikatorpflanzen für Biotests, daß die einzelnen Erregerisolate unterschiedliche Wirtspflanzenkreise aufweisen:

- Kartoffelisolate können sowohl für Kartoffeln als auch für Mais und bestimmte Zierpflanzen pathogen sein;
- dasselbe trifft umgekehrt auch für Zierpflanzenisolate zu;
- *Chrysanthemum* eignet sich am besten als Testpflanze, da sie sich für alle Erregerherkünfte als anfällig erwies.

Bei der Prüfung des im vergangenen Jahr hergestellten spezifischen Antiserums Zi-93 zeigte sich bei allen geprüften Erregerisolaten im ELISA eine Nachweisgrenze von  $10^6$  Zellen/ml. In einer größeren Versuchsserie mit 50 verschiedenen *E. chrysanthemi*-Isolaten erwiesen sich im Immunfluoreszenz (IF)-Test zwei Kaninchen-Antisera (51-93 und 60-93) als hochspezifisch für *E. chrysanthemi*. Dabei lag die Nachweisgrenze in dem für den IF-Test üblichen Bereich ( $4 \times 10^5$  Zellen/ml). Somit steht nunmehr eine sichere Nachweisteknik für *E. chrysanthemi* zur Verfügung: Nach Isolierung von pektinolytisch aktiven Bakterienkolonien mittels STEWART-Doppelagar (evtl. Inkubation bei 37 °C) kann die Identifizierung mittels

- spezifischer Seren im IF-Test (z. B. mit 51-3) oder mittels ELISA (mit Zi-93) sowie
- mit dem Phosphatase-Test (*E. chrysanthemi* reagiert als einziger pektinolytisch aktiver Vertreter dieser Gattung positiv)

vorgenommen werden. Für Virulenzprüfungen läßt sich der Stengelinkulationstest bei Chrysanthemum-Pflanzen anwenden. Unter den im Laufe der Untersuchungen gewonnenen pektinolytisch aktiven Bakterienisolaten von Kartoffel- und Zierpflanzenmaterial aus deutschen Produktionsbetrieben konnte *E. chrysanthemi* in keinem Falle nachgewiesen werden.

#### Abstract:

*Kalanchoe blossfeldiana* was tested as a possible indicator plant for *Erwinia chrysanthemi* using stem inoculation technique. Considerable virulence differences between the isolates under test could be proved. Therefore, *Kalanchoe* only can be used as additional test plant. In field experiments using *E. chrysanthemi*-inoculated seed tubers many potato plants showed remarkable but unspecific wilt symptoms without blackening of the lower stem parts being typical for the black-leg disease caused by *E. carotovora* subsp. *atroseptica*. In 1995 variety 'Karatop' showed the heaviest symptoms. For first time maize also was successfully involved in this field trial. By sensitivity test using ELISA the specific antiserum Zi-93 raised in 1994 from goat clearly reacted with  $10^6$  cells/ml. In immunofluorescence experiments with 50 *E. chrysanthemi* isolates two antisera raised from rabbits proved to be highly specific. In summary, now a certain detection method for *E. chrysanthemi* is available using the isolation by STEWART medium and the following identification by ELISA or IF technique with specific antisera; for confirmation, the phosphatase activity may be involved. For the analysis of virulence *Chrysanthemum* plants successfully can be employed. (BAZ-2207)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Grunewaldt, BAZ, Inst. f. Zierpflanzenzüchtung, Ahrensburg

040

#### 1.5. Untersuchungen zum Überleben von phytopathogenen Pilzen während der Kompostierung von Bioabfall in einem geschlossenen Rotteraktor Investigations on the survival of phytopathogenic fungi during composting of biodegradable material in self-contained reactor

Senula, A.

*Einschätzung der Qualität des im geschlossenen Rotteraktors gewonnenen Schnellkompostes aus phytomedizinischer Sicht. Beurteilung der Überlebensfähigkeit von phytopathogenen Pilzen im Pflanzmaterial während der Kompostierung.*

*Assessment on the quality of compost produced in a self-contained rotting reactor on phytopathogenic aspects. Investigation on the surviving ability of phytopathogenic fungi in plants during composting.*

Im Rahmen des Verbundprojektes „Neue Techniken der Kompostierung/Teilprojekt Kohlherniebekämpfung durch Kompostierung“, wurden Untersuchungen zum Überleben von phytopathogenen Pilzen bei der Schnellkompostierung in einem geschlossenen Rotteraktor begonnen. In die Untersuchungen einbezogen wurden zunächst die wirtschaftlich bedeutenden Erreger *Fusarium oxysporum*, *Phytophthora nicotianae* und *Rhizoctonia solani*. Diese Erreger besitzen neben einem breit gefächerten Wirtspflanzenkreis die Fähigkeit, Dauersporen zu bilden und haben somit eine hohe Überlebensfähigkeit im Boden und in befallenem Pflanzenmaterial. In Laborversuchen wurde die Temperaturtoleranz der genannten Pilze in Reinkultur ermittelt. Es zeigte sich, daß bis auf *F. oxysporum* kein anderer Erreger Temperaturen von 40 °C über 3d tolerieren kann. *F. oxysporum* ist demgegenüber potentiell in der Lage, auch noch Temperaturen von 60 °C über 7d zu überleben. Ausgehend von der Annahme, daß die Temperaturtoleranz der Pilze im Pflanzengewebe erhöht ist, wurden Temperaturversuche mit infiziertem Pflanzenmaterial durchgeführt. Hierzu wurden Pflanzen (Tomaten, Tabak, Erbse) im Gewächshaus mit *P. nicotianae* und *R. solani* inokuliert. Nachdem die Pflanzen deutlich sichtbare Krankheitssymptome zeigten, wurden sie in Erlenmeyerkolben mit 30 g sterilisierter Erde (50% Feuchte) überführt und bei verschiedenen Temperaturen inkubiert. Der Nachweis der Lebensfähigkeit der Erreger nach der Inkubation erfolgte mittels mikroskopischer Untersuchung des Pflanzenmaterials und Reisolierung der Erreger auf spezifischen Nährmedien sowie unter Verwendung von Köderpflanzen. Es war festzustellen, daß auch im Pflanzengewebe *P. nicotianae* und *R. solani* schnell abgetötet werden. Nach 7-tägiger Inkubation bei 40 °C konnten die Pilze nicht mehr aus dem Pflanzengewebe reisoliert werden. Entsprechende Versuche mit Tomate/*F. oxysporum* sind derzeit in Vorbereitung. Erste Kompostierungsversuche wurden im Laborreaktor (50g Fassungsvermögen) und im Versuchsreaktor (150 kg Fassungsvermögen) vorgenommen. Reinkulturen der Erreger, infiziertes Pflanzenmaterial und mit den Erregern verseuchter Boden wurden, vermischt mit Bioabfall, in den Rotteraktor

eingbracht und für 2 bzw. 3 Wochen kompostiert. Während beim Laborreaktor während der Kompostierung mehrfach Proben entnommen wurden, erfolgte die Probenahme im Versuchsreaktor am Ende der Schnellkompostierung. In allen Versuchsserien und auf allen Versuchsebenen innerhalb des Reaktors wurden im Verlaufe des Rotteprozesses Temperaturen von mehr als 60 °C für mehrere Tage erreicht. Unter diesen Bedingungen führte die Kompostierung zur Abtötung von *P. nicotianae*. Der Pilz konnte weder in den Pflanzenresten noch im Boden nachgewiesen werden. Der Nachweis von *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* gelang dagegen in einigen wenigen Fällen.

#### Abstract:

First investigations on the survival of phytopathogenic fungi during composting of biodegradable material in a self-contained rotting reactor were carried out. The phytopathogenic fungi *F. oxysporum*, *P. nicotianae* and *R. solani* were used as test organisms. The heat tolerance of these organisms was examined in laboratory tests. *P. nicotianae* and *R. solani* showed only little heat tolerance. After seven days incubation on 40°C of infected plants, the pathogens could not be reisolated. In comparison, *F. oxysporum* showed higher heat compatibility. Under the existing conditions in the rotting reactor the composting carried to the elimination of *P. nicotianae*. *F. oxysporum* could be established in plant rests and soil only in a little percentage, too.

Drittmittelprojekt: BMWF

In Zusammenarbeit mit: Entwicklungsgesellschaft Biotechnik mbH, Leipzig; Kerns, Univ. Leipzig  
041

## 2. Immundiagnostik Immunodiagnostical Methods

### 2.1. Einsatz des Enzym-verstärkten ELISA zum Nachweis von Pflanzenviren in Zuchtmaterial von Kulturpflanzen (Raps, Getreide, Zuckerrüben, Kartoffeln), deren Blattlausvektoren (Aphiden) sowie natürlich infizierten Wirtspflanzen (Unkräuter)

Application of enzyme-amplified ELISA for detection of plant viruses in breeding material of cultivated plants (oilseed rape, cereals, sugar beets, potatoes), their virus vectors (aphids) and naturally infected host plants (weeds)

Rabenstein, F.; Schliephake, E.

Verbesserung der Beurteilung von resistentem Zuchtmaterial und Erhöhung der Sicherheit von Evaluierungsmethoden; hochempfindlicher Nachweis von Luteo- und Closteroviren in Blattlausvektoren und natürlich infizierten Wirtspflanzen zur Verbesserung der Aussagen zur Virusverbreitung und Vorhersage von Virusepidemien; Etablierung der Enzymamplifikations-Technik und Erprobung von ausgewählten monoklonalen Antikörpern

gegen Luteo- und Closteroviren zum Virusnachweis; Sammeln von Blattläusen und Pflanzenproben; Ermittlung von virustragenden Blattläusen

Improvement of assessment of resistant breeding material and increase in safety of evaluation methods; development of highly sensitive detection methods for luteo- and closteroviruses in aphid vectors and naturally infected host plants using selected monoclonal antibodies; improvement of methods for the incidence of virus diseases and forecast of virus epidemics; setting up the enzyme amplification technique and testing of selected monoclonal antibodies against plant viruses; collection of aphids and plant samples; determination of virus carrying aphids

Für die Bewertung von Zuchtmaterial auf Resistenz gegen Pflanzenviren werden Testmethoden benötigt, die bei einer großen Probenzahl einen sicheren Nachweis ermöglichen. Insbesondere bei der Evaluierung von Zuchtmaterial mit Resistenz gegen Luteoviren, wie z. B. beet western yellows virus (BWYV), beet mild yellowing virus (BMVYV), barley yellow dwarf virus (BYDV) oder potato leafroll virus (PLRV) werden infolge der geringen Viruskonzentration empfindliche serologische Nachweisverfahren benötigt. Durch den Einsatz der Enzymamplifikations-Technik (Amp-ELISA) konnte die Nachweisgrenze im TAS-ELISA-Format bei Verwendung von ausgewählten monoklonalen Antikörpern (mAk) gegen die oben genannten Viren um den Faktor 10 verbessert werden. So waren z. B. mit dem Amp-TAS-ELISA mit mAk HE8 bei Verwendung eines gereinigten BWYV-Isolates 0,05 ng/ml noch nachweisbar, während mit p-Nitrophenylphosphat (pNPP) in diesem Test nur 1 ng/ml erfaßt wurden. Dieser mAk zeigte im Amp-ELISA auch eine deutliche Kreuzreaktion mit BMVYV, die bei Verwendung von pNPP erst bei Antigenkonzentrationen von 500 ng/ml sichtbar wurde (Abb. 1).

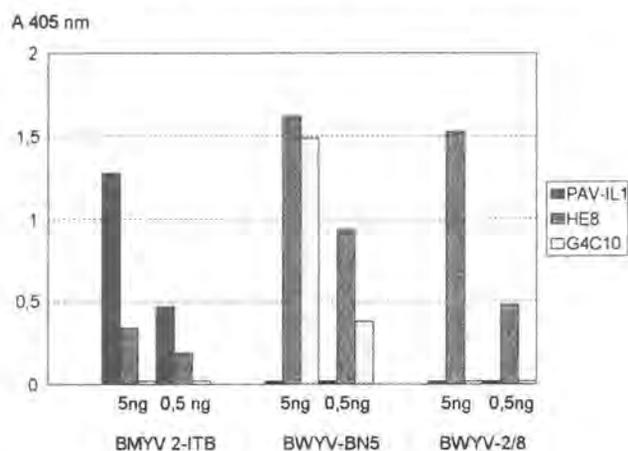


Abb. 1: Differenzierung von BMVYV- und BWYV-Isolaten mit den monoklonalen Antikörpern PAV-IL1, HE8 und G4C10 im TAS-ELISA mittels Enzymamplifikationstechnik (Amp-TAS-ELISA)

Mab G4C10 reagiert nur mit dem BWYV, Serotyp BN5, während HE8 mit beiden BWYV-Isolaten eine starke Reaktion und mit BMVY eine Kreuzreaktion zeigt. Die Verwendung der Enzymamplifikations-Technik im DAS-ELISA-Format mit polyklonalen Antisera gegen Lu-teoviren erbrachte aufgrund des relativ hohen Anteils von Antikörpern gegen Gesundheitsproteine keine befriedigenden Ergebnisse. Das potato virus Y konnte im Standard-DAS-ELISA mit polyklonalen Antisera und pNPP als Substrat bis zu einer Konzentration von 10 ng/ml nachgewiesen werden. Dagegen waren im PTA-ELISA unter Verwendung eines gruppenspezifischen mAk (Dr. H.-J. Vetten, BBA Braunschweig) mittels Amplifikations-Technik noch 0,5 ng/ml gereinigtes Virus nachweisbar. Gleichzeitig konnte bei gesteigerter Testempfindlichkeit die gesamte Testzeit im Amp-ELISA auf ca. 5 h verkürzt werden.

**Abstract:**

By setting up the enzyme amplification technique and using of selected monoclonal antibodies in a triple antibody sandwich ELISA the sensitivity for detection of beet western yellows virus, beet mild yellowing virus, barley yellow dwarf virus, and potato leafroll virus was improved at least ten times by shortening of the hole test procedure. The application of this technique can not be recommended by using of polyclonal antisera in the DAS-ELISA.

(BAZ-2209)

In Zusammenarbeit mit: Graichen, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

042

**2.2. Entwicklung moderner molekularbiologischer und immundiagnostischer Methoden zum Nachweis von *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* und anderen *Xanthomonas campestris*-Pathovaren in gärtnerischen Kulturen  
Development of modern molecular biological and immuno-diagnostic methods for detection of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* and other *Xanthomonas campestris* pathovars in horticultural plants**

Krämer, I.; Rabenstein, F.; Naumann, K.; Proll, E.; Zielke, R.

*Entwicklung eines empfindlichen und praktikablen Verfahrens zum Erregernachweis in Pelargonien und Begonien; Herstellung polyklonaler Antisera und Gewinnung spezifischer monoklonaler Antikörper; Einsatz spezifischer Antikörper in Immunfluoreszenztechniken, ELISA-Varianten, Westernblotting-Techniken und Immunelektronenmikroskopie*

*Development of a sensitive and suitable method for the detection of pathogens in Pelargonium and Begonia; production of polyclonal antisera and monoclonal antibodies; use of specific antibodies in immunofluorescence, ELISA, western blot, and immuno electron microscopy*

In Untersuchungen zum spezifischen und empfindlichen Nachweis von *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* an Pelargonie wurden verschiedene serologische Methoden und das Ausplattieren auf Agarmedium (YDC) verglichen. Dabei kamen folgende immunologische Techniken zur Anwendung: DAS-ELISA (monoklonal - Mab 5F8), Immunfluoreszenztest (IF-Test) (Mab 5F8) sowie der direct tissue blot assay (DTBA) (polyklonal und Mab5F8). Das Prüfmaterial für diese Versuche stammte von Stecklingen verschiedener Pelargoniesorten und -Zuchtlinien. Stengelabschnitte von 1 cm Länge wurden 17, 31 und 46 Tage nach der Inokulation entnommen und auf Befehl analysiert. Zuvor erfolgte eine Bonitur der zu untersuchenden Pflanzen. Die Stärke der Ausprägung von Krankheitssymptomen wurde mit Boniturnoten von 1 (keine Symptome) bis 9 (Absterben der Pflanzen) beurteilt. Im Ergebnis der Untersuchungen zeigte sich, daß die geprüften Methoden für den Nachweis von *X.c. pelargonii* in Pelargonie generell anwendbar sind, jedoch Unterschiede in der Nachweisempfindlichkeit aufweisen. Die meisten positiven Proben konnten mit dem Platten-test identifiziert werden, obwohl die Auswertung durch visuelle Bonitur manchmal erheblich durch andere bakterielle Erreger erschwert wurde, so daß 'falsch positive' Ergebnisse nicht auszuschließen wären. Unter den serologischen Verfahren erwies sich der IF-Test als empfindlichstes Nachweisverfahren. Die Ergebnisse, die mit den einzelnen Methoden erzielt wurden, stimmten sehr gut überein, wenn die Proben Pflanzen entnommen wurden, welche Symptome aufwiesen (Boniturnoten 2 bis 9). Der Nachweis des Erregers in symptomlosem Prüfmaterial (latenter Befall) ergab für die einzelnen Verfahren Differenzen in der Anzahl und Übereinstimmung der ermittelten positiven und negativen Proben. Die beste Übereinstimmung beim Methodenvergleich konnte zwischen IF-Test und DAS-ELISA erhalten werden. Ein schneller, qualitativer Nachweis von *X. c. pelargonii* ist mit dem DTBA möglich. Dieses Verfahren eignet sich auf Grund seiner einfachen Handhabung gut für routinemäßige Screenings. Die Nachweissicherheit und -empfindlichkeit dieses Tests soll durch Einbeziehung der Chemolumineszenz-Technik verbessert werden.

Für den DAS-ELISA konnte bereits eine weitere Steigerung der Nachweisempfindlichkeit durch Verwendung des fluoreszierenden Substrates Atto Phos erzielt werden. Die PCR wurde in diesen Untersuchungen zur Identifizierung der auf den Agarplatten gewachsenen Bakterienkolonien eingesetzt, die nach visueller Bonitur nicht eindeutig *X. c. pelargonii* zuzuordnen waren. Die Ursache dafür waren z.B. Fremdkeime, die *X. c. pelargonii* überwachsen hatten, oder auch das Auftreten von anderen, dem Erreger sehr ähnlichen Kolonietypen. Der Nachweis mittels PCR erfolgte anhand der Amplifikation eines für *X. c. pelargonii* spezifischen DNA-Fragmentes mit einer Größe von 340 bp.

**Abstract:**

Investigations on development of a sensitive and specific method for the detection of *X. c. pelargonii* in Pelargo-

nium varieties were carried out. Various serological methods and plating on agar medium (YDC) were compared. The following immunological techniques could be used: DAS-ELISA (monoclonal - MAb 5F8), immunofluorescence (MAb 5F8) and direct tissue blot assay (polyclonal and MAb 5F8). Differences in the sensitivity of the methods were found, especially when latent infections occurred. For the serological methods the best correspondence was determined between immunofluorescence and DAS-ELISA. The PCR could be used for analysing bacterial colonies with unknown identity on agar plates.

(BAZ-2208)

In Zusammenarbeit mit: Griesbach, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

043

**2.3. Einsatz immundiagnostischer Methoden zur Resistenzbewertung von Wintergerste gegen *Rhynchosporium secalis***  
**Application of immunodiagnostic methods for resistance evaluation of winter barley to *Rhynchosporium secalis***

Rabenstein, F.; Foroughi-Wehr, B.

*Erstellung von resistentem Ausgangsmaterial für die praktische Züchtung; Herstellung polyklonaler Antiseren und monoklonaler Antikörper; Erprobung von Immunoassays zur Bewertung von DH-Linien der Gerste; Ermittlung der Korrelation zwischen Boniturskala und ELISA-Werten*

*Development of basis material for practical resistance breeding; production of polyclonal antisera and monoclonal antibodies; application of enzyme immunoassays for the assessment of doubled haploid (DH)-lines of barley; investigation of correlation between visible scoring and ELISA-readings*

Eine Gesamteinfraktion aus 5 Isolaten des Pilzes *Rhynchosporium secalis* wurde aus lyophilisiertem Myzel durch Fällung mit Aceton gereinigt und für die Gewinnung von Antiseren verwendet. Kaninchen erhielten insgesamt drei intramuskuläre sowie vier intravenöse Injektionen. Die IgG aus dem Serum Nr. 52 mit dem höchsten Titer wurden gereinigt und für die Entwicklung eines indirekten (plate trapped antigen) Enzymimmunoassays (PTA-ELISA) verwendet, wobei hier der Nachweis der gebundenen Antikörper mit einem Anti-Kaninchen-IgG-AP-Konjugat erfolgt. Mit diesem Test konnten quantitative Befallsunterschiede in Gerstensorten nach künstlicher Inokulation mit *R. secalis* ermittelt werden. Hierfür wurden u. a. Sorten mit unterschiedlicher Feldresistenz und eine Doppelhaploid-(DH)-Population aus einer Kreuzung zwischen einer anfälligen und einer resistenten Sorte eingesetzt. Weiterhin erfolgten Prüfungen von Sorten in Klimakammern unter kontrollierten Bedingungen. Die Bewertung der Anfälligkeit mittels Boniturskala korrelierte sehr gut mit den Meßergebnissen des PTA-ELISA. Der höchste Korrelationskoeffizient zwischen Biotest und ELISA ( $r = 0,97$ ) konnte

20 Tage nach Inokulation gefunden werden. Häufig war mit dem ELISA eine Infektion nachweisbar, bevor Symptome sichtbar waren. In Feldexperimenten erwies sich eine Mischprobe von 10 Blättern je Parzelle als ausreichend für die ELISA-Bestimmung. Um die Empfindlichkeit des ELISA weiter zu verbessern, wurden verschiedene IgG-Präparationen mit alkalischer Phosphatase markiert und im DAS-ELISA überprüft. Alle geprüften Enzymkonjugate zeigten jedoch im DAS-ELISA eine geringere Nachweisempfindlichkeit als der PTA-ELISA. Ähnliche Ergebnisse wurden erhalten mit IgG-Fällungen aus Antiseren gegen Pilze der Arten *Drechslera teres*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*, *Phoma lingam*, *Plasmidiophora brassicae*, *Phytophthora nicotinae* und *Verticillium dahliae* und den entsprechenden AP-Konjugaten. Deshalb erfolgte eine Markierung der IgG-52-Fraktion aus Antiserum gegen *R. secalis* mit Biotin. Die Biotinkonjugate wurden sowohl im DAS- als auch im PTA-ELISA unter Verwendung von Streptavidin-AP getestet. Es konnte jedoch mit diesen beiden Varianten, im Vergleich zum PTA-ELISA mit anti-Kaninchen-AP-Konjugate, keine wesentliche Verbesserung der Nachweisempfindlichkeit erzielt werden.

Abstract:

A protein preparation from six isolates of *Rhynchosporium secalis* was used for polyclonal antiserum production in rabbits. A plate trapped antigen (PTA) ELISA was developed for detection of infection in winter barley and for measuring of differences in the level of resistance. Quantitative differences in the infection rate of *R. secalis* in field plots as well as after artificial inoculation in growth chambers could be determined. The results of visible scoring of seedlings at the 4-leaf-stage were significantly correlated with ELISA readings and the infection was detectable before symptoms became visible. A random sample of ten leaves per plot was sufficient for the test.

(BAZ-2210)

In Zusammenarbeit mit: Wolf, Univ. Göttingen; Gabler, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben

044

**2.4. Entwicklung eines immunologischen Testsystems zum Erregernachweis in der Wirt-Parasit-Kombination Gerste/*Drechslera teres***  
**Development of an immuno assay for the detection of *Drechslera teres* in barley**

Gabler, J.; Rabenstein, F.

*Beitrag zur Erregerdifferenzierung und zur Pathogeneseaufklärung; methodische Unterstützung der praktischen Resistenzprüfung; immunologische Methoden des Erregernachweises*

*Differentiation of isolates and explanation of pathogenesis; assistance of practical tests for resistance; detection of *Drechslera teres* by immunological methods*

Für einen ELISA zum quantitativen Nachweis von *Drechslera teres* in Gerstenblättern wurden zunächst vier polyklonale Antiseren (IgG 122, IgG 39, IgG 78 und IgG

79) aus unterschiedlichen Antigenansätzen hergestellt und getestet. Da diese Antiseren (vergl. Jahresbericht 1994) zum Teil Kreuzreaktionen mit anderen Pilzen und/oder unbefriedigende Reaktionen mit den homologen Antigenen zeigten, wurden weitere Antiseren (IgG 62 und IgG 63) hergestellt. Als Ausgangsmaterial diente die Myzeloberflächen-Waschflüssigkeit von sechs *D. teres*-Isolaten. Außerdem wurde durch Nachimmunisierung des betreffenden Kaninchens (mit der 31 kD-Proteinbande) das IgG 79/I-III gewonnen. Das IgG 62 und insbesondere IgG 63 zeigten im indirekten ELISA starke positive Reaktionen (Ext. 405 nm maximal 1,58) mit Reinkulturen von 13 *D. teres*-Isolaten, aber auch von *D. graminea*, *D. japonica*, *D. sorokiniana* und *D. tritici-repentis*. Schwächere Reaktionen erfolgten mit *D. teres*-infizierten Gerstenblättern (Ext. 405 nm maximal 0,68). Keine Kreuzreaktionen traten in diesem Test mit gesunden bzw. mit Zwergrost- oder Mehltau-infizierten Gerstenblättern auf. Ebenso erfolgten keine oder nur schwache Kreuzreaktionen mit Reinkulturen von *Rhynchosporium* und *Epicoccum*, jedoch starke mit *Ascochyta*. Das IgG 79 ergab mit *D. teres*-Reinkulturen nur schwach positive (Ext. 405 nm maximal 0,42), mit *D. teres*-infizierten Gerstenblättern negative ELISA-Reaktionen. Demgegenüber waren die Reaktionen der früher hergestellten Antiseren (IgG 39 und IgG 122) mit *D. teres*-infiziertem Blattmaterial erheblich höher (Ext. 405 nm maximal 1,35). Weitere Untersuchungen zur Beurteilung der vor-handenen Antiseren hinsichtlich ihrer Reaktivität und ihrer Eignung zur Erregerquantifizierung in *D. teres*-infiziertem Blattmaterial werden folgen. Außerdem wurde begonnen, den direct tissue blot assay (DTBA) vergleichend zum ELISA an *D. teres*-infiziertem Blattmaterial anzuwenden.

#### Abstract:

Four polyclonal antisera (IgG 122, IgG 39, IgG 79 and IgG 78) raised from different *D. teres* antigens were tested in indirect ELISA. Some of these antisera showed cross-reactions with other fungi, and/or the reactions with homologous antigens were weakly (compare Annual Report 1994). From this reason further antisera (IgG 62, IgG 63 and IgG 79/I-III) were raised and are tested now. The IgG 62 and 63 show strong reactions with 13 *D. teres* isolates, but also with *D. graminea*, *D. japonica*, *D. sorokiniana* and *D. tritici-repentis*. Weak reactions show barley leaves infected by *D. teres*. No cross-reactions were obtained with non-infected barley leaves and leaves infected by powdery mildew or brown rust. No or weak cross-reactions were obtained with *Rhynchosporium* and *Epicoccum*, but strong reactions with *Ascochyta*. The IgG 79/I-III show only weak reactions with all tested homologous antigens in contrast to IgG 39 and IgG 122. The investigations concerning the reactivity and the suitability of the antisera to quantify *D. teres* in barley leaves will be continued. We begun (in co-operation to E. Proll) to test the suitability of direct tissue blot assay (DTBA) for the detection of the pathogen in leaves.

(BAZ-2202)

In Zusammenarbeit mit: Kopahnke, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Reiss, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben  
045

#### 2.5. Entwicklung immunologischer Testsysteme zum Nachweis von *Phytophthora nicotianae* in *Saintpaulia* spec., *Sinningia* spec. und *Nicotiana* spec. Development of immunoassays for the detection of *Phytophthora nicotianae* in *Saintpaulia* spec., *Sinningia* spec., and *Nicotiana* spec. Gabler, J.

Erarbeitung einer Methode zum Nachweis von *Phytophthora* spec. mittels Serologie; Beschleunigung der Resistenzbewertung; immunologische Verfahren

Development of serological methods for detection of *Phytophthora* spec.; improvement of assessment for resistance; serological tests

Nach methodischen Vorarbeiten wurde geprüft, ob Resistenzunterschiede im Pathosystem *Saintpaulia/Phytophthora nicotianae* mit einem indirekten ELISA erfaßt werden können. Als Vergleichsmethode diente eine visuelle Symptombonitur nach einer neunstufigen Skala (1 = Pflanze gesund, 9 = Pflanze abgestorben). In die Untersuchungen wurden neun *Saintpaulia*-Sorten ('Heidrun', 'Ramona', 'Rapunzel', 'Debby', 'Loni', 'Valeska', 'Margret', 'Greta' und 'Sabrina') und sechs Erregerisolate ('Re Usam', 'P. para.', 'Pn 1679', 'Pn Glox.', 'Pn 2' und 'Pn 8') einbezogen. Drei voneinander unabhängige Versuche mit jeweils fünf Pflanzen je Sorte und Isolat führten zu folgenden Ergebnissen: Zwischen den ELISA-Werten (Ext. 405 nm) und den entsprechenden Boniturnoten bestand eine enge positive Korrelation. Demgemäß ergaben beide Methoden tendenziell gleichsinnige Aussagen zum Resistenzniveau der Sorten (Abb. 1) und zur Aggressivität der Erregerisolate (Abb. 2).

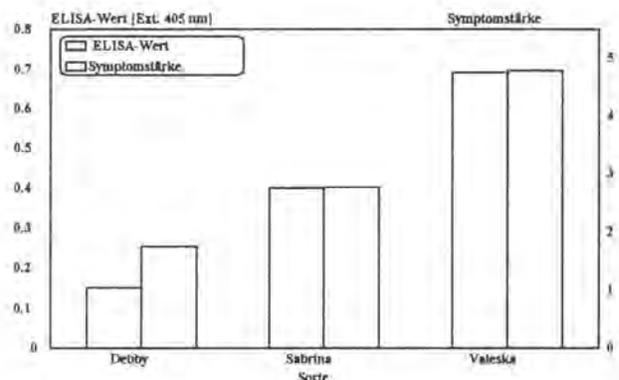


Abb. 1: Resistenzniveau von drei *Saintpaulia*-Sorten gegenüber *P. nicotianae* (Mittel von sechs Isolaten), ermittelt im ELISA und durch Symptombonitur.

Im Unterschied zur visuellen Bonitur konnte der Erreger mit dem ELISA jedoch auch in äußerlich gesund er-

scheinenden Pflanzen nachgewiesen werden (Häufigkeit 7 bis 26 %). Zwischen den Sorten bestanden signifikante Unterschiede im Resistenzniveau, jedoch war keine Sorte vollresistent. Das relativ höchste Resistenzniveau besaßen die Sorten 'Margret', 'Ramona' und 'Debby' (im Mittel der Isolate). 'Heidrun', 'Sabrina' und 'Rapunzel' nahmen eine mittlere Position ein. Als hochanfällig erwiesen sich dagegen 'Valeska', 'Greta' und 'Loni'. Am aggressivsten waren die Erregerisolate 'Re Usam.' und 'P. para.', mittlere Aggressivität zeigten 'P. n. 1679' und 'P. n. Glox.'. Das Isolat 'P.n. 8' besaß nur schwache Aggressivität, 'P.n. 2' war gänzlich apathogen (jeweils im Mittel der Sorten).

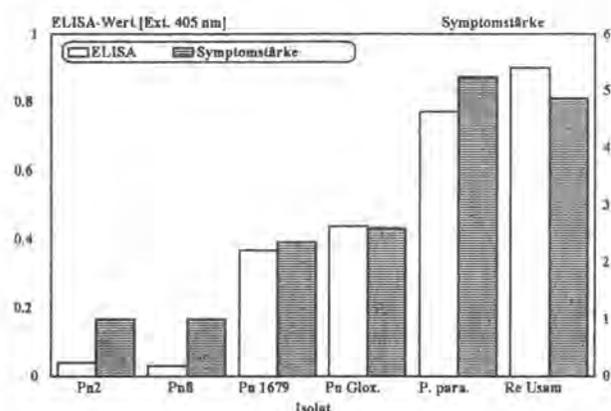


Abb. 2: Aggressivitätsunterschiede zwischen sechs *P. nicotianae*-Isolaten gegenüber *Saintpaulia* (Mittel von neun Sorten), ermittelt im ELISA und durch Symptombonitur.

Die Rangordnung der Sorten und Isolate blieb trotz der schwankenden Gewächshausbedingungen über die Versuche weitgehend stabil. Eine Rassenbildung des Erregers ließ sich aus den bisherigen Resultaten nicht ableiten. Abschließende Untersuchungen im Wirt-Parasit-System *Saintpaulia/Ph. nicotianae* stehen noch aus. Im Vergleich zur Symptombonitur erwies sich der ELISA in mehrfacher Hinsicht als überlegen:

Erstens ist er generell eine objektive Erregernachweismethode.

Zweitens war nur mit dem ELISA latenter Erregerbefall nachweisbar.

Drittens erwies er sich auch als die rationellere Methode, weil für den ELISA eingefrorene Pflanzenproben verwendet wurden, die vom Gewächshausversuch zeitlich unabhängig und zügig in einem Durchgang aufgearbeitet werden konnten. Das Testergebnis lag dann bereits innerhalb von zwei Tagen vor, während für die Symptombonitur ein mehrwöchiger Beobachtungszeitraum erforderlich war. Die Ergebnisse haben gezeigt, daß ein Verzicht auf mehrere zeitaufwendige Sichtbonituren zu Fehleinschätzungen geführt hätte, da einige Pflanzen erst nach längerer Zeit erkrankten, andere sich wieder erholten und äußerlich gesund erschienen, obgleich sie erregerversucht waren. Für ein Resistenzscreening in größerem Umfang wäre eine Vorselektion mit Hilfe der Sym-

ptombonitur und eine anschließende Differenzierung des eingegangenen Materials durch ELISA zweckmäßig. Die Eignung des ELISA zur Resistenzbewertung im Pathosystem *Sinningia/Ph. nicotianae* wurde analog *Saintpaulia/Ph. nicotianae* an Jungpflanzen geprüft. Es wurden die Sorten 'Pastellzauber', 'Scharlachrot' und 'Nordlandglut' sowie sieben Erregerisolate (die o. g. sechs und 'P. p. Ch.') verwendet. In den bisherigen Versuchen führten beide Methoden zu tendenziell gleichsinnigen Aussagen. Keine der *Sinningia*-Sorten besaß Vollresistenz, und auch die Unterschiede im Resistenzniveau waren gering: 'Scharlachrot' und 'Nordlandglut' waren im Mittel der Isolate etwas schwächer anfällig als 'Pastellzauber'. Unter den Isolaten waren 'P. n. Glox.' und 'Re Usam.' am aggressivsten, gefolgt von 'P. para.', 'P. p. Ch.' und 'P. n. 1679' mit mittlerer sowie 'P.n. 8' und 'P.n. 2' mit sehr schwacher Aggressivität. Weitere Versuche an Jungpflanzen werden folgen. Parallel dazu wurden erste orientierende Experimente mit abgetrennten, künstlich infizierten (Blattstielinjektion) Gloxinienblättern vorgenommen, die jedoch noch keine eindeutigen Schlußfolgerungen zulassen. Auch diese Untersuchungen werden weitergeführt.

#### Abstract:

An indirect ELISA was evaluated for its suitability to detect differences in resistance to *Ph. nicotianae* between *Saintpaulia* and *Sinningia* cultivars, respectively. Young plants of nine *Saintpaulia* and three *Sinningia* cultivars with different degrees of resistance were inoculated with six and seven isolates of the pathogen, respectively, and assessed for visual disease development at different times after inoculation and by ELISA. A close positive correlation between disease score and ELISA values demonstrated that the ELISA can be used to identify differences in resistance between the cultivars tested. Further investigations in both host/pathogen/systems are necessary. (BAZ-2211)

In Zusammenarbeit mit: Brielmaier-Liebetanz, BBA, Braunschweig; Gerlach, Pflanzenschutzamt, Berlin 046

#### 2.6. Gruppenspezifischer Nachweis von Potyviren mit Hilfe von polyklonalen Antisera Group specific detection of potyviruses by polyclonal antisera

E. Proll; F. Rabenstein

*Herstellung, Charakterisierung und Anwendung polyklonaler Breitband-Antisera für die Diagnose aphidenübertragbarer Potyviridae*

*Preparation, characterization and application of broad-spectrum polyclonal antisera for detection of aphid-transmitted potyviridae.*

In Fortführung der Untersuchungen zur Gewinnung von polyklonalen Breitband-Antisera wurde ein gegen das Kartoffel-Y-Virus (PVY) hergestelltes polyklonales Antiserum (Y-16) (booster-Injektion mit durch Trypsin abgebautem Antigen) näher charakterisiert. Nach Absätti-

gung des Antiserums mit gesundem Tabaksaft konnten mit Y-16 im indirekten ELISA die gleichen aphidenübertragbaren Potyviren, aber auch das rye grass mosaic und das agropyron mosaic virus, nachgewiesen werden, wie mit dem polyklonalen „Breitbandserum“ Tu-314.. Von den mehr als 25 geprüften aphidenübertragbaren Potyviren reagierte nur das sellerie mosaic virus nicht. Im immunelektronenmikroskopischen Dekorationstest, im Western blot und im direct tissue blot assay (DTBA) zeigten die gleichen Potyviren meist nur schwache oder gar keine Reaktionen. Die im Jahr 1994 begonnenen vergleichenden Untersuchungen zum Nachweis des PVY in natürlich infizierten Kartoffeln mit Hilfe des direkten und indirekten ELISA sowie des (DTBA) ergaben wieder eine gute bis sehr gute Übereinstimmung der Teste bei Freilandpflanzen. Von insgesamt 723 geprüften Freilandproben waren im direkten und indirekten ELISA 148 und im DTBA 146 PVY-positiv. Die Ergebnisse des DAS-ELISA mit den Augenstecklingen und des indirekten ELISA bzw. DTBA mit den Dunkelkeimen der Knollen aus dem Jahr 1994 stimmten zu 90% überein. Gewisse Abweichungen ergaben sich draus, daß zwar Knollen von einer Staude, aber nicht die gleichen Knollen, für die verschiedenen Tests verwendet werden konnten. Auf Grund der vorliegenden Ergebnisse ist der DTBA für den routinemäßigen qualitativen PVY-Nachweis in Kartoffelpflanzen zu empfehlen. Sein Ein-

satz zum Virusnachweis in der Knolle bedarf noch weiterer Untersuchungen.

Abstract:

A polyclonal antiserum (Y-16) was prepared with a first injection cycle of intact PVY and a booster injection of trypsin-treated PVY particles. This antiserum showed a high cross-reactivity with more than 25 aphid-borne potyviruses as well as ryegrass mosaic and agropyron mosaic rymoviruses with the indirect ELISA. The results of our comparative experiments with the direct tissue blot assay (DTBA), indirect and direct ELISA to check the diagnostic reliability of DTBA for the routine detection of PVY in breeding material from field showed a good agreement of the three tests. Our preliminary results indicate that the DTBA is useful for the rapid qualitative detection of PVY in potato plants under the condition of mass testing.

Drittmittelprojekt: Träger: Martin-Luther-Univ. Halle-Wittenberg, Inst. f. Phytopathologie u. Pflanzenschutz, Arbeitsgruppe Aschersleben

In Zusammenarbeit mit: Darsow, Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz

047

# Institut für Epidemiologie und Resistenz

## Institute for Epidemiology and Resistance

### Aschersleben

Aufgabe des Institutes ist es, die Epidemiologie von Viren, Bakterien, Pilzen und tierischen Schädlingen unter dem Gesichtspunkt einer effektiven Resistenzzüchtung zu untersuchen. Die Isolate von Krankheitserregern werden analysiert und ihre Virulenz bzw. Aggressivität ermittelt. Genotypen aus Kultur- und Wildpflanzensortimenten werden auf Resistenz gegenüber wirtschaftlich wichtigen Schaderregern evaluiert und Basismaterial mit möglichst dauerhafter Mehrfachresistenz erstellt. Selektionsmethoden werden angewandt und vervollkommenet sowie die Vererbung der Resistenz und Resistenzmechanismen gemeinsam mit Partnerinstituten untersucht. In die Stammsammlung von phytopathogenen Viren und Pilzen wurden zum Ende des Jahres 1995 auch die Bakterien integriert. Es werden außerdem ausgewählte Arthropodenarten, insbesondere von Aphiden, in Dauerzucht gehalten.

One of the main task of the institute has been to study the epidemiology of viruses, bacteria, fungi, and pests in research aimed at identifying effective resistance. To accomplish this task, isolates of pathogens are analysed to determine their virulence and pathogenicity; genotypes from genebank collections are evaluated for resistance to pathogens and pests. Basic breeding material with complex resistances will be produced by applying and developing selection methods. The inheritance and mechanisms of resistance are also being studied in cooperation with other institutes. The collection of phytopathogenic viruses and fungi was enlarged at the end of 1995 by the addition of a bacterial collection. Several species of arthropods, especially aphids, are also permanently maintained at the institute.

## 1. Viren und tierische Schädlinge Viruses and Pests

### 1.1 Bewertung der Gerste hinsichtlich Resistenz gegen pilzübertragbare Viren und Toleranz gegen blattlausübertragbare Viren sowie Bereitstellung von Ausgangsmaterial mit verbesserter Resistenz

**Evaluation of barley for resistance to fungi-transmitted viruses and tolerance to aphid-transmitted viruses as well as generation of basic material with improved resistance**

Habekuß, A.; Proeseler, G.

*Mit dem Ziel der Selektion von virusresistentem bzw. -tolerantem Material werden Gerstenherkünfte, insbesondere aus dem Gaterslebener Wintergerstensortiment, in Gewächshaus-, Klimakammer- und Feldversuchen auf Resistenz gegen BaMMV, BaYMV-1 und -2 sowie auf Resistenz/Toleranz gegen verschiedene Stämme des BYDV geprüft. Kreuzungsexperimente dienen resistenzgenetischen Analysen, der Kombination der nachgewiesenen Virusresistenzen sowie der Kombination der Virusresistenz mit anderen wirtschaftlich bedeutsamen Merkmalen (Pilzresistenz, Ertrag).*

*Accessions of the Gatersleben winter barley collection are tested in the greenhouse, in growth chambers and in the field for resistance to BaMMV, BaYMV-1 and -2 and for tolerance to different strains of BYDV. Resistance*

*genetic analyses are carried out to investigate the inheritance of the observed virus resistance/tolerance. By means of conventional cross techniques virusresistance should be combined with other important traits (fungi resistance, yield).*

In mehrjährig durchgeführten Untersuchungen wurden über 1200 Wintergersten der Genbank Gatersleben sowohl im Freiland unter natürlichen Infektionsbedingungen, d.h. unter Nutzung der BYDV-Übertragung durch die natürliche Blattlauspopulation bzw. durch den Anbau auf natürlich kontaminierten Flächen bzw. auf künstlich angelegten Provokationsparzellen (BaYMV-1, -2, BaMMV), als auch in künstlichen Infektionsversuchen unter kontrollierten Bedingungen in Klimakammern oder im Gewächshaus auf Virusresistenz getestet.

Toleranz gegen das BYDV:

Im Ergebnis der Freilandprüfungen wurden 12 Gersten selektiert, die über Jahre ein relativ stabil bleibendes Toleranzniveau aufwiesen (Tab. 1). 4 dieser Gersten stammen aus Korea, 3 aus Rußland, 2 aus Bulgarien und je eine Form aus Schweden, den USA und Japan.

Bei der Beurteilung dieser Untersuchungen ist zu beachten, daß wir seit einigen Jahren im Feld neben dem BYDV auch einen Befall durch das WDV zu verzeichnen haben. Diese beiden Viren sind symptomatologisch nur schwer voneinander zu unterscheiden. Dadurch wird die BYDV-Resistenzprüfung im Freiland erschwert, denn es ist nicht möglich, jede verdächtige Pflanze serologisch

Tab. 1: Ausprägung der BYDV-Toleranz von Wintergersten unter natürlichen Infektionsbedingungen und im Gewächshaus (PAV/*Rhopalosiphum padi*; MAV/*Sitobion avenae*) im Vergleich zu Standardsorten

| Sorte<br>Herkunft | Resistenzgrad |      |      |       |       |                 |
|-------------------|---------------|------|------|-------|-------|-----------------|
|                   | Freiland      |      |      | GWH   |       | <sup>Next</sup> |
|                   | 1992          | 1993 | 1994 | PAV   | MAV   | PAV             |
| Post              | 86,6          | 73,0 | 84,1 | 97,8  | 97,0  | 1,84            |
| Perry             | 61,5          | 27,7 | 60,2 | 92,2  | 88,3  | 1,54            |
| Vixen             | 46,8          | 18,9 | 49,2 | 99,3  | 87,0  | 1,43            |
| Rubina            | 59,1          | 32,4 | 53,8 | 44,4  | 64,8  | 1,49            |
| Erfa              | 62,7          | 21,7 | 50,9 | 29,5  | 52,9  | 1,52            |
| HHOR 3158 +       | 94,6          | 83,6 | 87,8 | 99,6  | 99,7  | 1,43            |
| HHOR 3263         | 91,7          | 69,5 | 74,6 | 76,8  | 97,8  | 1,73            |
| HHOR 3318         | 91,3          | 77,6 | 43,8 | 95,8  | 100,0 | 1,51            |
| HHOR 3486         | 87,5          | 65,7 | 67,3 | 78,5  | 93,1  | 1,62            |
| HHOR 3488         | 92,5          | 60,2 | 71,6 | 86,4  | 80,9  | 1,77            |
| HHOR 4389         | 85,8          | 60,0 | 92,3 | 50,2  | 96,4  | 1,37            |
| HHOR 4559         | 94,3          | 73,7 | 76,1 | 47,9  | 77,5  | 1,65            |
| HHOR 4436 +       | 87,2          | 68,5 | 76,6 | 85,5  | 98,8  | 1,48            |
| HHOR 4932         | 90,4          | 79,6 | 67,5 | 86,8  | 98,8  | 1,72            |
| HHOR 10589 +      | 94,8          | 98,9 | 90,4 | 89,4  | 85,2  | 1,42            |
| HHOR 10859 *      | n.t.          | 96,0 | 90,3 | 100,0 | 100,0 | 1,38            |
| HHOR 10860 *      | n.t.          | 90,9 | 84,9 | 100,0 | 100,0 | 1,48            |

Befall des Infektionsstreifens:

1991/92 40 % n.t. = nicht getestet

1992/93 80 %

1993/94 60 % +/\* = mäßig resistent/resistent gegenüber *Drechslera teres*

(ELISA) zu testen. Andererseits erlaubt das Auftreten beider Viren die Selektion auf kombinierte Virusresistenz. Inwieweit die von uns selektierten Gersten auch WDV-Resistenz besitzen, muß in künstlichen Infektionsversuchen ermittelt werden.

In den Gewächshausprüfungen konnten 11 der 12 im Freiland selektierten Gersten ihre guten Toleranzeigenschaften gegen das BYDV bestätigen (Tab 1). Nach der Infektion mit einem PAV- und einem MAV-ähnlichen Isolat wurden folgende Reaktionen bei den HHOR-Nummern beobachtet:

- hohe PAV- und MAV-Toleranz: 3158, 3318, 10859 und 10860,
- mittlere PAV- und MAV-Toleranz: 3488 und 10589,
- höhere MAV- als PAV-Toleranz: 3263, 3486, 4436, 4932,
- MAV-tolerant, aber PAV-anfällig: 4389 und
- PAV- und MAV-anfällig: 4559.

Im Vergleich zu den anfälligen Gersten, bei denen die meisten Pflanzen stark vergilbt und verzweigt waren, traten bei den toleranten Gersten überwiegend Pflanzen ohne bzw. mit schwachen Symptomen auf. Es wurden

Tab.2: Reaktionstypen der Wintergerstenherkünfte aus der Genbank Gatersleben gegenüber dem Mosaikvirus-Komplex

| Reaktionstyp | BaMMV | BaYMV-1 | BaYMV-2 | HHOR-Nummern  |
|--------------|-------|---------|---------|---|
| 1            | a     | a       | a       |   |
| 2            | r     | r       | a       | 304, 2267, 2362, 3093                                 |
| 3            | r     | r       | r       | 1361, 3151*, 4224*, (3097*), (3471*), (4184)          |
| 4            | r     | a       | a       | (2288, 2310*, 3073*, 3224, 3365, 4196*, 8273*, 8274*) |

a = anfällig, r = resistent, \* = tolerant gegenüber BYDV

Bei Nummern in Klammern traten latente oder sehr späte Infektionen mit BaMMV in der Klimakammer, nicht aber im Freiland auf.

Tab. 3: Resistenzverhalten von Wintergersten gegenüber der Infektion mit BYDV (PAV,MAV), BaMMV, BaYMV-1 und BaYMV-2 sowie *Drechslera teres* und *Puccinia hordei*

| Herkunft  | Resistenz |             | BaMMV | BaYMV-1 | BaYMV-2 | <i>D. teres</i> | <i>P. hordei</i> |
|-----------|-----------|-------------|-------|---------|---------|-----------------|------------------|
|           | PAV       | grad<br>MAV |       |         |         |                 |                  |
| HHOR 2297 | 98,8      | 94,4        | (r)   | a       | a       | r               | a                |
| HHOR 2310 | 96,5      | 100,0       | r     | a       | a       | r               | a                |
| HHOR 2363 | 49,9      | 42,3        | r     | r       | a?      | r               | a                |
| HHOR 3073 | 98,4      | 100,0       | r #   | a       | a       | r               | a                |
| HHOR 3097 | 98,7      | 100,0       | r     | r       | r       | a               | n.t.             |
| HHOR 3151 | 99,6      | 100,0       | r     | r       | r       | r               | a                |
| HHOR 3365 | 74,2      | 95,0        | r ##  | a       | a       | a               | a                |
| HHOR 3471 | 92,5      | 100,0       | r     | r       | r       | n.t.            | n.t.             |
| HHOR 3488 | 98,2      | 98,1        | r     | a       | a       | (r)             | a                |
| HHOR 4196 | 93,8      | 100,0       | r     | a       | a       | (r)             | a                |
| HHOR 4224 | 92,8      | 94,7        | r     | r       | r       | a               | a                |
| HHOR 8273 | 100,0     | 100,0       | r     | a       | a       | r               | a                |
| HHOR 8274 | 96,2      | 100,0       | r #   | a       | a       | (r)             | a                |
| Post      | 96,8      | 98,4        | a     | a       | a       | ma              | a                |
| Rubina    | 63,4      | 71,9        | a     | a       | a       | n.t.            | n.t.             |
| Vixen     | 99,3      | 84,6        | a     | a       | a       | n.t.            | n.t.             |
| Perry     | 92,2      | 88,3        | a     | a       | a       | n.t.            | n.t.             |
| Erfa      | 57,0      | 62,9        | a     | a       | a       | n.t.            | n.t.             |

- r = resistent  
a/ma = anfällig/mäßig anfällig  
# = nicht *ym4*  
## = *ym7* (GRANER u.a., 1995)  
n.t. = nicht getestet

jedoch keine Unterschiede in der Viruskonzentration zwischen toleranten und anfälligen Formen festgestellt (Tab. 1). Demnach handelt es sich bei den von uns selektierten Gersten um symptomtolerante Herkünfte. Inwieweit auch Ertragstoleranz vorliegt, wird im Anbaujahr 1996 in einem künstlichen Infektionsversuch im Freiland geprüft. Unter Einbeziehung von DH-Linien sollen in den nächsten Jahren die genetischen Grundlagen der selektierten toleranten Gersten untersucht werden.

#### Resistenz gegen bodenübertragbare Mosaikviren:

Bei der Evaluierung gegenüber den bodenübertragbaren Mosaikviren konnten die Genotypen auf Grund der bisherigen Befunde hauptsächlich in nachstehende Reaktionstypen eingeteilt werden (Tab. 2).

Bei Versuchen in der Klimakammer zeigten die Pflanzen insbesondere des Reaktionstyps 4 nach mechanischer Inokulation mit dem BaMMV keine oder nach überdurchschnittlich langer Inkubationszeit nur schwache Mosaiksymptome. Serologisch oder immunelektronenmikroskopisch war vielfach auch in völlig symptomlosen Pflanzen das BaMMV nachweisbar. In Freilandversuchen, auf einer Fläche, die mit BaMMV und BaYMV-1 kontaminiert war, konnte jedoch in diesen Herkünften

das BaMMV nicht identifiziert werden. Besonders intensiv wurde in dieser Hinsicht HHOR 3365, eine Herkunft aus Krasnodar, geprüft. Während bei Versuchen in der Klimakammer in 67 % von insgesamt 284 Pflanzen das BaMMV serologisch nachweisbar war, gelang bei einem Freilandversuch während der Vegetationszeit 1994/95 in keiner von 363 Pflanzen der serologische Nachweis dieses Virus. Die Testung der Pflanzen wurde von Mitte März bis Anfang Juni im Abstand von 14 Tagen durchgeführt. Bei der relativ anfälligen Vergleichssorte 'Borwina' reagierten dagegen bis zu 36 % mit Antiserum gegen BaMMV, wobei die Extinktionswerte Ende April und Ende Mai besonders hoch waren. Diese Befunde lassen erkennen, daß einzelne Genotypen in Abhängigkeit von der Art der Inokulation unterschiedlich reagieren. Während eine Infektion mit dem BaMMV nach Preßsaftabreibung in der Klimakammer gelingt, ist auf Prüfflächen, die mit dem Vektor *Polyomyxa graminis* sowie dem BaMMV und BaYMV-1 kontaminiert sind, in den Pflanzen derselben Genotypen trotz intensiver serologischer Testung kein BaMMV nachweisbar.

Der Genotyp HHOR 3365 erwies sich im Freiland zwar als resistent gegenüber dem BaMMV, war jedoch anfällig gegen BaYMV-1 und -2. Die genetische Analyse durch GRANER u.a. (1995) ergab, daß die Resistenz

gegenüber dem BaMMV in diesem Genotyp durch das rezessive Gen *ym7* bedingt und auf dem kurzen Arm des Chromosoms 5 lokalisiert ist.

#### Mehrfachresistenz:

Kombinierte Resistenz gegenüber BYDV und dem Mosaikvirus-Komplex wurde bei HHOR 3097, 3151, 3471 und 4224 nachgewiesen (Tab. 3). Außer bei der Herkunft HHOR 2363, die vollständige Mosaikresistenz besitzt, wurde bei den übrigen BYDV-toleranten Gersten Resistenz gegenüber einem oder zwei Viren des Mosaik-Komplexes festgestellt.

Die selektierten virusresistenten bzw. -toleranten Herkünfte wurden außerdem hinsichtlich ihrer Anfälligkeit gegenüber *Drechslera teres* und *Puccinia hordei* getestet. Wie den Tabellen 1 und 3 zu entnehmen ist, besitzen einige Formen auch Netzfleckenresistenz (KOPAHNKE, pers. Mitt.). Besonders hervorzuheben ist die Sippe HHOR 3151, bei der neben der kombinierten Virusresistenz auch Resistenz gegenüber dieser pilzlichen Blattfleckenkrankheit nachgewiesen wurde. Es konnte jedoch keine Zwergrostresistenz in den Wintergerstenherkünften ermittelt werden (WALTHER, pers. Mitt.).

#### Abstract:

For several years more than 1200 accessions of the Gatersleben winter barley collection were tested in the greenhouse, in growth-chambers, and in the field for resistance to BaMMV, BaYMV-1 and -2 and for tolerance to different strains of BYDV. 11 BYDV-tolerant barleys were selected. But with regard to virus concentration no differences could be observed between susceptible and tolerant entries. In the next years genetic basis of the observed BYDV-tolerance will be investigated by means of doubled haploid lines.

The BaMMV/BaYMV-1/-2 resistant barleys could be grouped in 3 types. Some accessions are combined resistant to the 3 viruses of the mosaic-complex. Barleys with complete mosaic resistance and a high level of BYDV-tolerance to PAV- and MAV-like isolates are of special interest. Some of these entries also possess resistant to *Drechslera teres*.

(BAZ-2301)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben; Graner, BAZ, Inst. f. Resistenzgenetik, Grünbach 048

## 1.2. Einlagerung von Resistenzen gegen das Beet western yellows virus (BWYV) in Raps (*Brassica napus* ssp. *napus*) mittels gentechnischer und konventioneller Methoden

### Teilprojekt Aschersleben

#### Transmission of resistance to beet western yellows virus (BWYV) in oilseed rape by biotechnological and classical methods

#### project Aschersleben

Graichen, K.

*Kreuzung von anfälligem Winterraps mit TuYV-(Syn. BWYV)-resistentem Resyntheseraps und Chinakohl, Prüfung der F<sub>2</sub>-Populationen zur Analyse der Spaltungsverhältnisse, Ermittlung der TuYV-Resistenz in S<sub>2</sub>-Populationen des resistenten Resyntheserapses, Erstellung von resistentem Ausgangsmaterial für die praktische Pflanzenzüchtung, Ermittlung der Schädwirkung durch TuYV-Befall, Untersuchungen zur aktuellen Befallsituation in Winterraps.*

*Crossing of susceptible oilseed rape with TuYV(syn. BWYV) resistant resynthesized rapeseed and Chinese cabbage, analysis of the segregation in F<sub>2</sub> populations, determination of resistance to TuYV in S<sub>2</sub> populations of the resistant resynthesized rapeseed, providing of resistant basic material for plant breeders, determination of damaging effects of infection by TuYV on oilseed rape, studies on occurrence in oilseed rape crops.*

Als einziger Winterraps-Genotyp verfügt bisher der Resyntheseraps 'R 54' über eine Resistenz gegen das TuYV (Syn. BWYV). Mit dem Chinakohl Nr. 67 (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*) steht eine weitere TuYV-Resistenzquelle zur Verfügung. Durch Kreuzungen mit diesen beiden *Brassica*-Genotypen wurde versucht, TuYV-Resistenz in Winterrapsarten und -linien einzulagern. Die Prüfung der F<sub>1</sub>-Populationen ergab einheitliche Anfälligkeit unter Gewächshausbedingungen. In der Freilandprüfung blieben die infizierten Pflanzen der F<sub>1</sub>-Populationen ohne Virussymptome und wiesen im DAS-ELISA verringerte Viruskonzentrationen auf.

In F<sub>2</sub>-Populationen traten 8 Wochen p.i. wieder resistente Pflanzen auf, wobei in 9 von 11 Nachkommenschaften die beobachtete Spaltung der erwarteten 1 : 3 - Spaltung entsprach (Tab. 1), was auf eine rezessive, monogen vererbte TuYV-Resistenz hindeutet. In zwei weiteren Populationen war zwar eine gesicherte Abweichung festzustellen, in der Tendenz liegt sie aber dem Verhältnis 1 : 3 sehr nahe. Somit ist es erstmalig gelungen, die TuYV-Resistenz in virusanfällige Winterrapsarten und -zuchtmaterial einzulagern.

Die erneuten Testungen von zwei F<sub>2</sub>-Populationen 15 Wochen bzw. 9 Monate p.i. ergab eine erhebliche Zunahme des Anteils TuYV-infizierter Einzelpflanzen. Gleiche Reaktionen wurden bei der zeitlich versetzten Prüfung von S<sub>2</sub>-Populationen des resistenten Resyntheserapses 'R 54' ermittelt. In resistenten Pflanzen kommt es offensichtlich erst sehr spät zu einer mittels DAS-ELISA nachweisbaren Virusvermehrung. Durch die Einbeziehung neuartiger immunologischer und/oder

Tab. 1: Ergebnisse der genetischen Analyse zur Vererbung der Resistenz von Raps gegenüber dem TuYV (Syn. BWYV), ermittelt an F<sub>2</sub>-Populationen aus Kreuzungen von anfälligen Winterraps mit dem resistenten Resyntheseraps 'R 54' (Auswahl)

| Kreuzung                     | Anzahl Pflanzen |                                    |  | $\chi^2$ |
|------------------------------|-----------------|------------------------------------|--|----------|
|                              | geprüft         | beobachtet<br>resistent : anfällig | erwartet (1 : 3)<br>resistent : anfällig |          |
| 'Samourai' x 'R 54'          | 434             | 97 : 337                           | 108,5 : 325,5                            | 1,6252   |
| 'Mansholt's' x 'R 54'        | 447             | 124 : 323                          | 111,75 : 335,25                          | 1,7904   |
| 'Falcon' x 'R 54'            | 64              | 14 : 50                            | 16 : 48                                  | 0,3333   |
| 'Wotan' x 'R 54'             | 194             | 35 : 159                           | 48,5 : 145,5                             | 5,0103*  |
| anfällige Kontrolle 'Sollux' | 100             | 0 : 100                            |  |          |

\* - signifikant bei  $\alpha = 0,05\%$

molekularbiologischer Nachweismethoden soll eine Verbesserung der Prüfmethodik erreicht werden. Im kommenden Frühjahr ist die Überprüfung der Ergebnisse im Freiland erforderlich, da es bereits in den F<sub>1</sub>-Populationen deutliche Unterschiede im Resistenzverhalten unter Gewächshaus- und Freilandbedingungen gibt. Bei der Prüfung der S<sub>2</sub>-Populationen von TuYV-resistenten Einzelpflanzen des 'R 54' spalteten bisher immer wieder virusanfällige Genotypen ab (Tab 2). Die Ursache für dieses Ergebnis ist wahrscheinlich darin zu sehen, daß in Resyntheserapsen Rekombinationen zwischen den beiden Genomen des Rapses mit einer zehnfach höheren Häufigkeit auftreten als bei herkömmlichem Raps, wie neuere molekulargenetische Untersuchungen in England gezeigt haben (W. ECKE, pers. Mitt.). Darüberhinaus ergaben Chromosomenanalysen, daß der 'R 54' nicht wie normaler Winterraps 38, sondern nur 34 Chromosomen hat. Durch die Einbeziehung von DH-Linien\* des 'R 54' und rekombinanter Inzuchtlinien aus der Kreuzung von anfälligen Rübsen (*B. rapa* ssp. *oleifera*) mit resistentem Chinakohl sollen weitere Informationen zur Genetik der TuYV-Resistenz erhalten werden.

Tab. 2: Resistenzverhalten von Selbstungsnachkommen des Resyntheserapses 'R54' (Auswahl)

| Pflanze | r:a   | Pflanze | r:a  | Pflanze  | r:a    |
|---------|-------|---------|------|----------|--------|
| R54     | 16:49 | 54-5    | 70:8 | 54-5/1   | 25:2   |
|         |       |         |      | 54-5/2   | 51:2   |
|         |       |         |      | 54-5/12  | 38:1   |
|         |       | 54-7    | 7:16 | 54-7/3   | 7:48   |
|         |       |         |      | 54-7/7   | 33:2   |
|         |       | 54-15   | 39:1 | 54-15/1  | 49:7   |
|         |       |         |      | 54-15/2  | 33:3   |
|         |       |         |      | 54-15/12 | 103:49 |

\*-resistent:anfällig

Zur Entwicklung von molekularen Markern für die markergestützte Selektion auf Resistenz gegen das TuYV in Winterraps wurde in F<sub>2</sub>-Populationen der Kreuzungen

'Samourai' und 'Mansholt's' mit 'R 54' durch mehrfache serologische Untersuchungen der Resistenzstatus der Einzelpflanzen ermittelt und die Pflanzen für die Marktentwicklung übergeben.

In Parzellenversuchen mit den Sorten 'Falcon' und 'Zeus' waren im Anbaujahr 1994/95 durch Infektionen mit zwei TuYV-Isolaten die Erträge um 17,7% bis 28,0% verringert.

Zur Einschätzung der aktuellen Befallssituation wurden Pflanzenproben aus 57 Winterrapsbeständen der Bundesländer Sachsen-Anhalt, Brandenburg, Nordrhein-Westfalen und Niedersachsen auf TuYV-Befall untersucht. In neun Beständen aus Sachsen-Anhalt und Nordrhein-Westfalen konnte TuYV-Befall in Höhe von 70 % bis 100 % ermittelt werden. Infektionsraten von 40 % bis 70 % waren in 22 Feldern vorhanden. Mäßiger Befall in Höhe von 10 % bis 40 % konnte in 14 Winterrapsfeldern nachgewiesen werden, und in den Proben von 12 Beständen ließ sich kein oder schwacher Befall bis zu 10 % nachweisen. Insgesamt wiesen die Proben einen mittleren Befallsgrad von 52 % auf. Bemerkenswert ist der Befund, daß die Flächen mit sehr hohem bis vollständigem Befall sich sämtlich in typischen Ackerbauregionen befanden. Dagegen wiesen die Bestände aus Landschaften mit hohem Grünland- und Waldanteil keinen oder nur geringen Virusbefall auf.

Abstract:

Resistance to turnip yellows virus (TuYV; syn. beet western yellows virus, BWYV) was transmitted in susceptible oilseed rape cultivars and lines by crossing with one TuYV resistant resynthesized rape and one Chinese brassica (*Brassica rapa* ssp. *pekinensis*). In the F<sub>2</sub> populations a ratio of resistant to susceptible plants of 1 : 3 was detected. In a field trial the yield of two oilseed rape cultivars was reduced by 17 % to 28 % by infection with two TuYV isolates. During the 1994/95 growing season the degree of TuYV infections ranged in the samples from oilseed rape crops from 0 % in 12 crops until to 70 % to 100 % in 8 crops, respectively. In samples of 57

crops from different German countries an average of infection degree of 52 % could be found.

In Zusammenarbeit mit: Rabenstein, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung und Pathogendiagnostik, Aschersleben; Peterka, Schrader, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik, Quedlinburg; Rudloff, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Ecke, Tillmann, Univ. Göttingen; Schiemann, BBA, Braunschweig; Hammer, Genbank, IPK Gatersleben

049

**1.3. Untersuchung der Virus-Vektor-Beziehungen zwischen verschiedenen Aphiden und dem Milden Rübenvergilbungsvirus (BMV) sowie dem Westlichen Rübenvergilbungsvirus (BWV)**  
**Analysis of the virus/vector relationship between different aphids and the beet mild yellowing virus (BMV) and beet western yellows virus (BWV)**  
 Schliephake, E.; Graichen K.

*Feststellung der Eignung verschiedener Blattlausarten zur Übertragung der Luteoviren auf Rübe (BMV) und Raps (BWV/TuV).*

*Estimation of the ability of different aphid species for the transmission of luteoviruses to beet (BMV) and rape (BWV/TuV) respectively.*

Untersucht wurde bisher die Vektoreignung von 25 Aphidenarten aus der Zucht des Instituts für Epidemiologie und Resistenz Aschersleben. Zur Virusakquisition wurden die Aphiden in Petrischalen für 24 h auf BMV-infizierte Rübenblätter bzw. BWV-infizierte Rapsblätter gesetzt (nach den Ergebnissen vorliegender Untersuchungen ist das BWV als eine synonyme Bezeichnung für das Wasserrübenvergilbungsvirus - turnip yellows virus, TuV - zu betrachten).

Danach wurden jeweils 5 Aphiden auf Keimpflanzen von Rübe (zur Übertragung des BMV) bzw. von Raps (für das BWV) gesetzt. Nach 2 d im Labor wurden die Aphiden auf den Testpflanzen durch eine Insektizidbehandlung (Pirimor 0,08%) abgetötet. Die blattlausfreien Pflanzen wurden im Gewächshaus aufgestellt und nach 6 Wochen die Anzahl infizierter Pflanzen serologisch mittels DAS-ELISA bestimmt. Dazu wurde ein polyklonales Antiserum verwendet, mit dem der Nachweis sowohl des BMV als auch des BWV möglich ist.

Das BMV konnte lediglich durch 4 Aphidenarten übertragen werden, zur Übertragung des BWV waren hingegen 17 der getesteten 24 Arten fähig. Effektivster Vektor beider Viren war *Myzus persicae* mit Infektionsraten von 28,6 % (BMV) bzw. 96,4 % (BWV) (Tab. I).

Tab. I: Übertragungsraten des BMV und BWV durch verschiedene Aphidenarten

| Blattlausart                      | Übertragungserfolg (%) |      |
|-----------------------------------|------------------------|------|
|                                   | BMV                    | BWV  |
| <i>Acyrtosiphon pisum</i> rot     | 0,0                    | 3,6  |
| <i>Acyrtosiphon pisum</i> grün    | 0,0                    | 0,0  |
| <i>Aphis craccivora</i>           | 0,0                    | 0,0  |
| <i>Aphis fabae</i>                | 1,1                    | 0,0  |
| <i>Aphis frangulae gossypii</i>   | 0,0                    | 1,7  |
| <i>Aphis nasturtii</i>            | 0,0                    | 0,0  |
| <i>Aphis pomi</i>                 | 0,0                    | -    |
| <i>Aulacorthum circumflexum</i>   | 0,0                    | 5,4  |
| <i>Aulacorthum solani</i>         | 0,0                    | 25,0 |
| <i>Brachycorynella asparagi</i>   | 0,0                    | 10,9 |
| <i>Brevicoryne brassicae</i>      | 0,0                    | 14,8 |
| <i>Cavariella aegopodii</i>       | 0,0                    | 3,7  |
| <i>Macrosiphoniella sanborni</i>  | 0,0                    | 3,6  |
| <i>Macrosiphum albifrons</i>      | 0,0                    | 16,1 |
| <i>Macrosiphum euphorbiae</i>     | 1,7                    | 8,9  |
| <i>Megoura vicia</i>              | 0,0                    | 0,0  |
| <i>Metopolophium dirhodum</i>     | 10,7                   | 0,0  |
| <i>Myzus persicae</i>             | 28,6                   | 96,4 |
| <i>Myzus nicotianae</i>           | 0,0                    | 7,7  |
| <i>Nasonovia ribis-nigri</i>      | -                      | 17,8 |
| <i>Pentatrichopus fragaefolii</i> | 0,0                    | 1,8  |
| <i>Rhopalosiphum maidis</i>       | 0,0                    | 6,7  |
| <i>Rhopalosiphum padi</i>         | 0,0                    | 3,6  |
| <i>Semiaphis dauci</i>            | -                      | 0,0  |
| <i>Sitobion avenae</i>            | 0,0                    | 5,4  |

**Abstract:**

It was studied the ability of transmission of two luteoviruses to beet and rape by different aphid species. The BMV isolate was transmitted only by 4 out of 23 species. In contrast the BWV isolate was transmitted by 17 out of 24 species, among them *Myzus persicae* (96,4 %) and 3 cereal aphids.

(BAZ-2320)

In Zusammenarbeit mit: Rabenstein, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung und Pathogendiagnostik, Aschersleben  
 050

**1.4. Evaluierung von Weizen- und Gerstenherkünften auf Resistenz gegen Blattläuse im Gewächshaus und Freiland unter Berücksichtigung der Epidemiologie von Getreideaphiden**

**Screening of barley and wheat for resistance to aphids in the greenhouse and field with regard to the epidemiology of cereal aphids**

Schliephake, E.; Geißler, K.

*Evaluierung von ausgewähltem Material aus der Genbank Gatersleben auf mögliche Resistenz gegen die Getreideaphiden *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum* und *Rhopalosiphum maidis* anhand ihrer Vermehrungsfähigkeit. Vergleich der Vermehrung der Aphiden auf Jungpflanzen in der Klima-*

Tabelle 1: Anzahl der *Hordeum*, *Triticum* und *Aegilops* - Sippen, die bisher in der Klimakammer auf Blattlausresistenz geprüft wurden

|                      | <i>Rhopalosiphum padi</i> | <i>Sitobion avenae</i> | <i>Metopolophium dirhodum</i> | <i>Rhopalosiphum maidis</i> |
|----------------------|---------------------------|------------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| <i>Hordeum</i> spp.  | 42                        | 42                     | 155                           | 120                         |
| <i>Triticum</i> spp. | 86                        | 86                     | 14                            | -                           |
| <i>Aegilops</i> spp. | 37                        | 35                     | -                             | -                           |
|                      | <b>165</b>                | <b>163</b>             | <b>169</b>                    | <b>120</b>                  |

Tabelle 2: Indizes für die Vermehrung von *S. avenae* und *R. padi* auf verschiedenen *Aegilops* - Sippen in der Klimakammer

| Sippe               | Vermehrungsindex im Vergleich zu 'Alcedo' * |                |
|---------------------|---|----------------|
|                     | <i>S. avenae</i>                            | <i>R. padi</i> |
| AE182               | <b>0,05</b>                                 | 1,61           |
| AE496               | <b>0,12</b>                                 | 0,56           |
| AE760               | <b>0,22</b>                                 | 0,63           |
| AE783               | <b>0,26</b>                                 | 1,29           |
| AE823               | <b>0,28</b>                                 | 0,88           |
| AE900               | <b>0,21</b>                                 | 1,48           |
| AE957               | <b>0,25</b>                                 | 1,14           |
| 'Alcedo' (Standard) | 1,00  | 1,00           |

\* fett gedruckte Werte sind signifikant vom Standard verschieden

kammer und Vergleich des natürlichen Befallsauftritts im Freiland.

*Evaluation of selected barley and wheat forms of the genebank Gatersleben for resistance to the aphid species *Rhopalosiphum padi*, *Sitobion avenae*, *Metopolophium dirhodum*, and *Rhopalosiphum maidis* by estimation of the aphid multiplication. Comparisons of the multiplication of the aphids under controlled conditions and of the natural infestation in the field.*

Aphiden gehören zu den wichtigsten tierischen Schädlingen im Getreideanbau. Deshalb ist die Selektion von Getreideformen mit dauerhafter Resistenz gegen Aphiden ein wichtiges Ziel, um die Ertragsstabilität zu sichern,

Ertragsverluste infolge Befall durch Aphiden und Viren, die durch die Aphiden übertragen werden, zu senken und die Umweltbelastung durch Insektizidanwendungen zu verringern. Um Resistenzquellen zu finden, wurde die Befallsentwicklung der Getreideaphiden an verschiede-

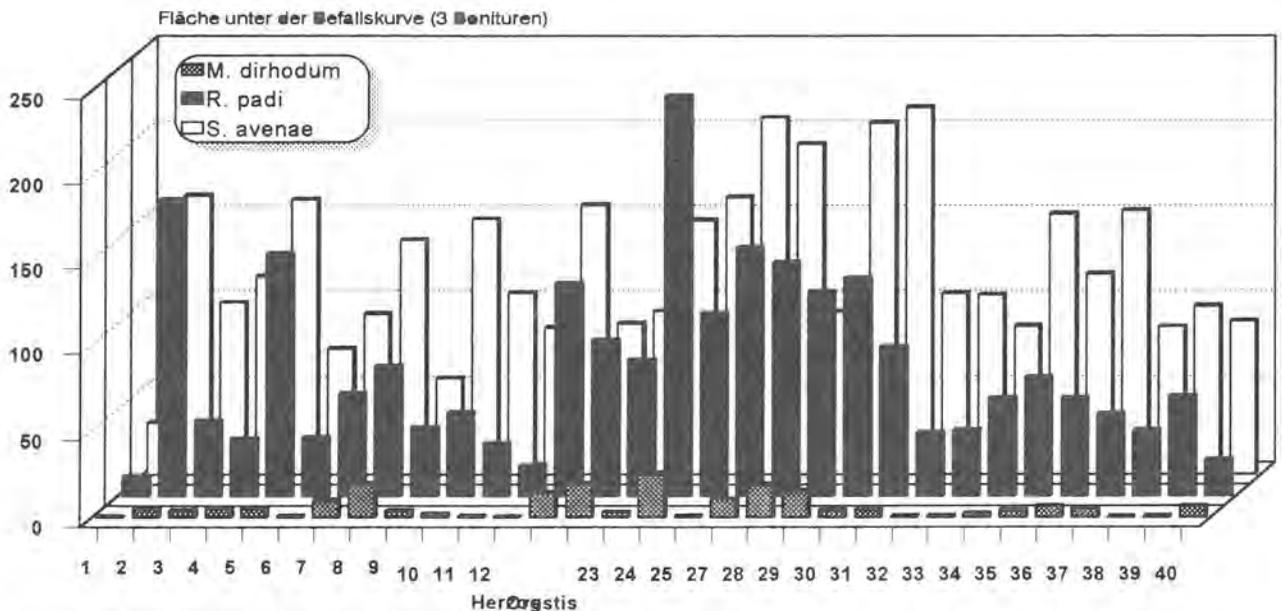


Abb. 1: Blattlausbefall im Freiland 1995 an Winterweizen-Sippen

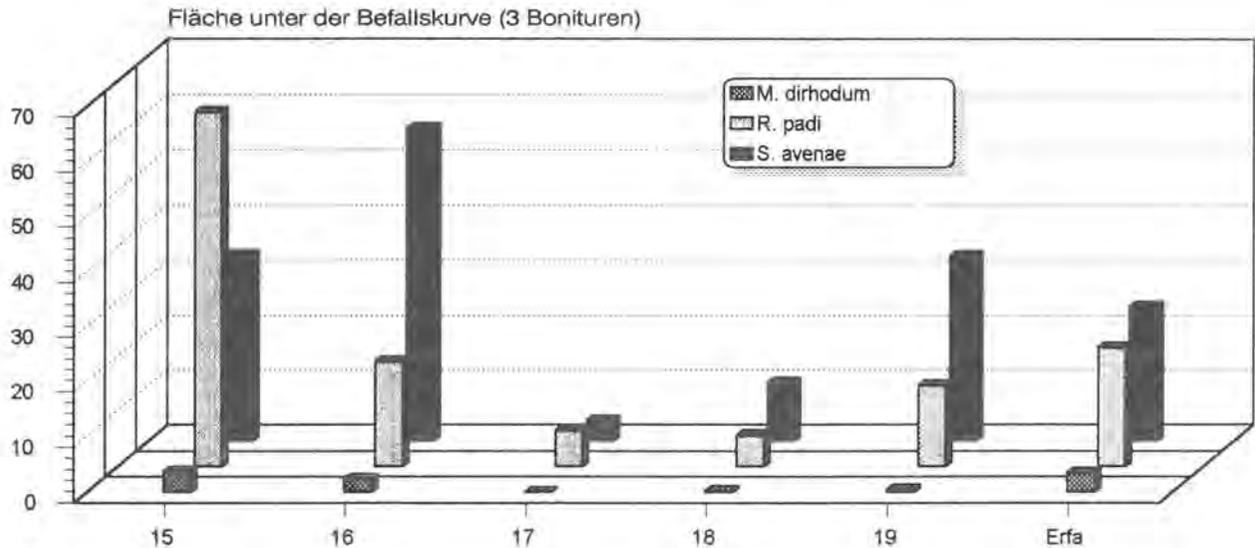


Abb. 2: Blattlausbefall im Freiland 1995 an Wintergersten-Sippen

nen Gersten- und Weizensippen aus der Genbank Gatersleben in der Klimakammer und im Freiland untersucht. Tabelle 1 gibt Auskunft über den Umfang der bisher durchgeführten Klimakammerprüfungen. Deutlich geringere Blattlausentwicklungen wurden bisher an Wildformen von *Hordeum* sowie einigen *Triticum*- und *Aegilops*-Arten gefunden. Dabei zeigte *Aegilops* in diesen Untersuchungen zwar Resistenz gegen *S. avena*, aber nicht gegen *R. padi* (Tab. 2).

Im Freiland wurde in Parzellenversuchen an 40 Wintergetreide- und 18 Sommergetreide-Sippen der natürliche Blattlausbefall bonitiert. Im Vergleich zu den vorhergehenden Jahren war der Befall gering bis mittelstark. Charakteristisch war weiterhin für 1994, daß neben dem Auftreten von *Rhopalosiphum padi* und *Metopolophium dirhodum* eine deutliche Befallszunahme durch *Sitobion avenae* registriert werden konnte. Die Abbildungen 1 und 2 geben einen Überblick über die erhaltenen Befallsstärken. Diese wurden aus drei Bonituren, die im Abstand von 5...10 Tagen durchgeführt wurden (Anzahl Aphiden je 15 Halme/Parzelle bei drei Wiederholungen) als Blattlausbefallstage berechnet.

Ermittelte Befallsunterschiede zwischen den Sippen erwiesen sich lediglich für *M. dirhodum* als signifikant geringer, verglichen mit der anfälligen Sorte 'Herzog'. Für *R. padi* und *S. avenae* ließen sich die gefundenen Befallsdifferenzen zum Standard statistisch nicht sichern. Die Maisblattlaus *R. maidis* wurde in diesen Untersuchungen nur vereinzelt gefunden und daher nicht ausgewertet.

In den geprüften Wintergerste-Sippen erwiesen sich die beobachteten Befallswerte bei allen drei Aphidenarten als nicht signifikant verschieden zum Standard 'Erfa'.

#### Abstract:

Some accessions were found with significant lower aphid development compared with the susceptible standard in the evaluation for aphid resistance of barley and wheat in the climatic chamber. A clearly lower aphid development

particularly registered at wild forms of barley and wheat as an *Aegilops* species. In field checks of winter cereals significant difference was only found for the attack of *Metopolophium dirhodum*. Generally we found only a poor development of this species in natural conditions. Up to a medium development we could register for *Rhopalosiphum padi* and *Sitobion avenae*.

(BAZ-2318)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben.

051

#### 1.5. Wechselwirkungen zwischen Virusresistenz bzw. Virustoleranz, Blattlausresistenz und dem Einfluß von Umweltbedingungen bei Gerste

##### Interactions between virus resistance (tolerance), resistance to aphids and the influence of the environmental conditions on the virus transmission of barley

Schliephake, E.; Habekuß, A.

Untersuchung möglicher Wechselwirkungen zwischen virustoleranten Gerstenformen, dem Befall durch Aphiden sowie dem Einfluß der Temperatur auf die Virusübertragung. Zu testen sind die Vermehrung der Getreideaphiden auf den Gerstenformen sowie die Infektionsrate für das BYDV durch verschiedene Aphidenarten in Abhängigkeit von der Temperatur.

Investigation of interaction between barley accessions with tolerance to BYDV infection and the multiplication of aphids and the influence of the temperature on the virus transmission. Testing of the multiplication rate of different cereal aphids on the barley forms. Testing of the infection rate for the BYDV with different aphid species by different temperatures.

Bei der serologischen Untersuchung (ELISA) von 15 *Hordeum bulbosum*-Sippen aus Groß Lüsewitz auf spontanen BYDV-Befall wurde A17 als einzige virus-

freie Herkunft ermittelt. In 4 aufeinanderfolgenden Infektionsversuchen (3 Versuche mit PAV-Isolat/*Rhopalosiphum padi*, 1 Versuch mit MAV-Isolat/*Sitobion avenae*, 10 Aphiden/Pflanze) wurde versucht, die 11 Pflanzen dieser Sippe künstlich zu infizieren. 49 d p.i. erfolgten die symptomatologische Bewertung und serologische Untersuchung. Alle Pflanzen blieben trotz mehrmaliger, massiver Virusinokulation symptomlos und virusfrei.

Eine mögliche Erklärung für die nicht erfolgte Infektion könnte ein gehemmtes Einstichverhalten der Aphiden sein. Daher wurde das Saugverhalten von apteren *R. padi*-Weibchen auf diesen Pflanzen mittels EPG („electrical penetration graph“) untersucht und mit dem Verhalten auf der BYDV-anfälligen Sorte 'Erfä' (*Hordeum vulgare*) verglichen. Die Registrierung erfolgte über 8 h. Es wurden jeweils 5 Weibchen/Pflanze ausgewertet.

Die Tabelle 1 enthält die mittleren Werte für das Verhalten der Weibchen auf den verschiedenen Testpflanzen, wobei sich auffällige Unterschiede im Saugverhalten zeigen.

Aus den erhaltenen Mustern der Saugaktivität ist abzuleiten, daß auf *H. bulbosum* nur durchschnittlich jede dritte Laus im Versuchszeitraum das Phloem erreichte bzw. in dieses einstach, während auf 'Erfä' jede Aphide im Mittel drei Einstiche ins Phloem durchführte. Ebenso sind die E1- und E2-Phasen auf *H. bulbosum* auffällig kürzer. Weiterhin konnte beobachtet werden, daß die E1-Phase, die die Abgabe von Speichel ins Phloem signalisiert und damit wesentlich für die Virusübertragung ist, auf A17 im Mittel wesentlich kürzer als auf A21 ist, was eine denkbare Erklärung für die fehlende Infektionsmöglichkeit der Sippe A17 ergeben würde.

Auf *H. bulbosum* wurden außerdem deutlich längere F-Phasen festgestellt, die als Ausdruck einer gesteigerten Bewegungsaktivität der Stechborsten im intrazellulären Bereich zu werten sind.

Die erhaltenen Ergebnisse unterstützen die Annahme, daß die Virusresistenz wenigstens teilweise damit erklärt werden könnte, daß das Einstichverhalten der Aphiden negativ beeinflusst und dadurch die Blattlausansiedlung gehemmt wird.

Abstract:

In several BYDV-resistance tests with artificial PAV/

*Rhopalosiphum padi* and MAV/*Sitobion avenae* inoculations one entry of *Hordeum bulbosum* (A17) could not be infected with the virus. Forty nine d p.i. none of the 11 tested plants of A17 showed symptoms, besides virus was not serological detectable. The penetration behaviour of *R. padi* females was studied with the EPG method and compared with that of a virus-susceptible plant (A21) of *H. bulbosum* and on *H. vulgare* ('Erfä') plants. The number and duration time of phloem-penetrations were very lower on *H. bulbosum* than on *H. vulgare*. For the A17 plants a very short time of E1-pattern was characteristically. Both *H. bulbosum* plants gave longer F-pattern than *H. vulgare*.

(BAZ-2305)

In Zusammenarbeit mit: Michel, Kandawa, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz

052

#### 1.6. Resistenzevaluierung von *Allium*- und *Daucus*-Arten gegen Nematoden

##### Evaluation of *Allium* and *Daucus* species for resistance to nematodes

Habekuß, A.; Schliephake, E.; Geißler, K.

*Genotypen des Gaterslebener Allium-Sortimentes und Daucus-Formen verschiedener Herkunft werden auf natürlich mit Ditylenchus dipsaci bzw. Meloidogyne hapla infizierten Flächen (Provokationsfeldern) hinsichtlich Nematodenresistenz untersucht. Labortests werden weiterentwickelt und ihre Eignung für Resistenzscreenings geprüft.*

*Accessions of the Gatersleben collection of Allium species and various materials of Daucus are tested for resistance in the field naturally infected with Ditylenchus dipsaci and Meloidogyne hapla, respectively. Laboratory tests are improved and their usefulness is investigated for resistance screenings.*

Auf einer mit *Ditylenchus dipsaci* natürlich kontaminierten Prüffläche in Aschersleben wurden in den Anbaujahren 1993 bis 1995 98 *Allium*-Herkünfte (76 *Allium cepa*, 20 *A. fistulosum*, 2 *A. nutans*) der Genbank Gatersleben auf Nematodenbefall untersucht. In Abhängigkeit vom Saatgutbestand wurden je Prüfnummer 50 keimfähige Samen (1m-Reihe) in ein- bis dreifacher Wiederholung Ende März ausgesät. Ende Juni bis Mitte Juli erfolgte die

Tab. 1: Mittelwerte der Häufigkeit des Auftretens und der Zeitdauer (s) charakteristischer Kurvenmuster bei der Registrierung des Saugverhaltens von *Rhopalosiphum padi* auf *Hordeum vulgare* 'Erfä' und *Hordeum bulbosum*-Sippen (A17 und A21)

| Pflanze | Anzahl Einstiche | Gesamteinstichzeit | Anzahl E1-Phasen | Phloemsaugzeit E1 | Anzahl E2-Phasen | Ploemsaugzeit E2 | Anzahl F-Phasen | Gesamtzeit F-Phasen |
|---------|------------------|--------------------|------------------|-------------------|------------------|------------------|-----------------|---------------------|
| A21     | 9,00             | 19844,50           | 0,25             | 59,50             | 0,00             | 0,00             | 1,25            | 5168,75             |
| A17     | 9,67             | 17470,00           | 0,33             | 2,67              | 1,00             | 1106,67          | 1,33            | 4398,67             |
| 'Erfä'  | 9,00             | 21296,25           | 3,50             | 1036,00           | 3,00             | 8972,00          | 1,75            | 1592,25             |

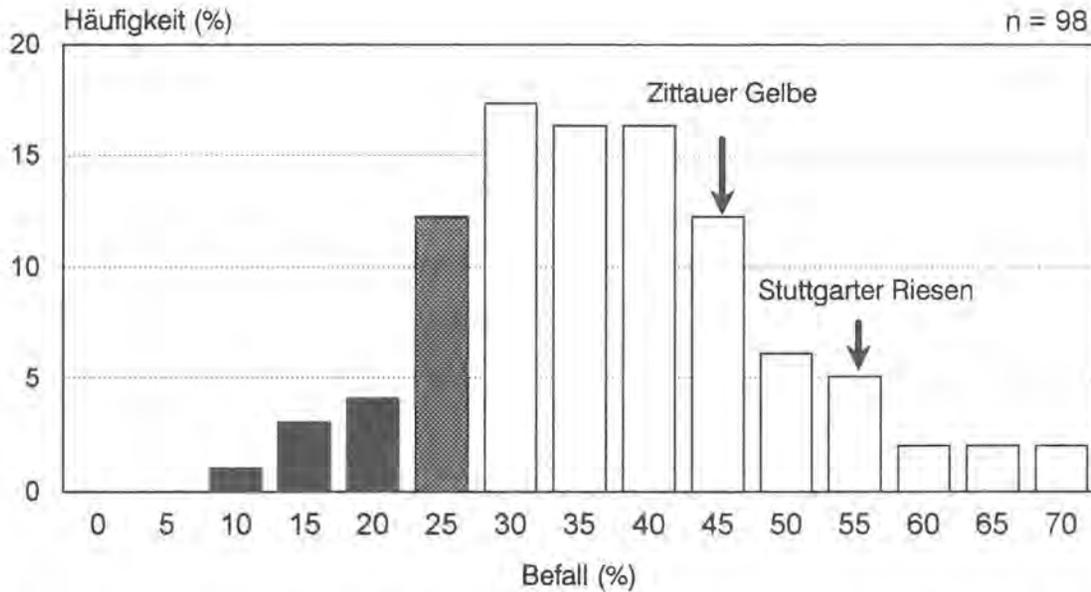


Abb. 1: Häufigkeitsverteilung der Zwiebelherkünfte in den einzelnen Befallsklassen im Mittel der Prüffahre 1994 und 1995

Versuchsböner, indem die Anzahl symptomtragender Pflanzen/Parzelle ermittelt wurde. Anhand des Befalls der Anfälligkeitsstandards 'Zittauer Gelbe' und 'Stuttgarter Riesen' konnte der natürliche Infektionsdruck in den einzelnen Prüffahren beurteilt werden. Im Jahr 1993 herrschten auf Grund der lang anhaltenden Trockenheit und der hohen Temperaturen im Frühjahr ungünstige Entwicklungsbedingungen sowohl für die Nematodenpopulation als auch für das Pflanzenwachstum. In den Jahren 1994 und 1995 war hingegen eine gute Differenzierung zwischen anfälligen und toleranten Herkünften möglich. 8 Herkünften zeigten gute Toleranzeigenschaften (Abb.), wobei All 307 (*A. cepa*, 'Ispanska 482') die geringsten Befallsraten aufwies. 12 Herkünften konnten bisher nicht eindeutig beurteilt werden. Die übrigen getesteten Formen sind nematodenanfällig. Die Toleranzeigenschaften der selektierten Herkünften werden in Laboruntersuchungen weiter charakterisiert.

Die Prüfung eines *Daucus*-Sortimentes zur Selektion von Einzelpflanzen mit Resistenz gegen *Meloidogyne hapla* wurde auch 1995 unter den Bedingungen eines extremen Schädlingsbefalls auf einer Provokationsfläche mit langjährigem Möhrenanbau durchgeführt. Insgesamt waren 34 Sorten, Wildarten-Bastarde bzw. F<sub>2</sub>/BC-Spaltungsnachkommenschaften von Zuchtmaterial aus Quedlinburg in die Untersuchungen einbezogen; 20 Prüfnummern waren bereits in den Jahren 1993 und 1994 getestet worden. Je Parzelle wurden 20 Pflanzen geerntet und befallsfreie Exemplare wiederum zur Vermehrung nach Quedlinburg überstellt. Die Nachkommen sollen in die weiteren Prüfungen einbezogen werden. Insgesamt konnten aus 16 Prüfnummern 79 Einzelpflanzen ohne Nematodenbefall selektiert werden, davon 11 Prüfnummern mit 63 Einzelpflanzen im zweiten bzw. dritten Prüffahr.

#### Abstract:

From 1993 to 1995 98 accessions of the Gatersleben collection of *Allium* species were tested for tolerance in a field naturally infested with *Ditylenchus dipsaci*. 8 entries showed good tolerance characters estimated by means of the number of infected plants per plot. The lowest infestation rate was observed in All 307 (*A. cepa*, 'Ispanska 482'). These forms will be investigated more in detail in laboratory tests.

In case of *Meloidogyne hapla* in 1995 34 origins of *Daucus* were tested for resistance to the pests under high natural infestation conditions. 79 single plants from 16 entries were selected as resistant. Their descendant were be integrated into further tests.

(BAZ-2309)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben; Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

053

#### 1.7. Erarbeitung von Methoden und Evaluierung von Genotypen des Apfels mit Resistenz gegen Spinnmilben und Aphiden

**Development of methods and evaluation of genotypes of apple with resistance to spider mites and aphids**

Proeseler, G.; Habekuß, A.

Methoden zur Prüfung von Malus-Wild- und -Kulturformen auf Resistenz gegen tierische Schaderreger werden entwickelt und erprobt. In die Untersuchungen werden als wirtschaftlich wichtige Arten unter den Tetranychiden *Panonychus ulmi* und *Tetranychus urticae* sowie unter den Aphiden *Aphis pomi* und *Dysaphis plantaginea* einbezogen. Dem Züchtungsforscher werden

Tab. 1: Bewertung von Apfelsorten und -zuchtklonen auf Resistenz gegenüber *Tetranychus urticae*

| Sorte / Klon   | Anzahl Bäume | Symptombonitur Wochen nach der Besiedlung |     |     | Anzahl Milben/Baum  |
|----------------|--------------|---|-----|-----|---------------------|
|                |              | 4   | 5   | 6   |                     |
| 'James Grieve' | 6            | 3,0                                       | 3,3 | 4,7 | 1649                |
| 'Releika'      | 4            | 6,0                                       | 6,0 | 8,2 | 1674                |
| 'Releta'       | 10           | 6,6                                       | 7,1 | 8,8 | 2163 <sup>1)</sup>  |
| 'Alkmene'      | 10           | 5,6                                       | 6,5 | 9,0 | 6835                |
| Pi-As 8,94     | 10           | 4,8                                       | 4,0 | 4,5 | 2086                |
| Pi-As 1,123    | 8            | 3,8                                       | 4,0 | 5,5 | 1302                |
| Pi-As 33,105   | 10           | 5,8                                       | 5,1 | 7,4 | (382) <sup>2)</sup> |
| Pi-As 33,106   | 10           | 4,0                                       | 4,5 | 7,2 | 2210 <sup>3)</sup>  |
| Pi-As 1,11     | 10           | 5,0                                       | 5,8 | 8,5 | 4852 <sup>3)</sup>  |
| Pi-As 1,98     | 10           | 5,1                                       | 7,8 | 8,5 | (540) <sup>3)</sup> |
| Pi-As 1,2      | 10           | 5,9                                       | 6,8 | 9,0 | 3155                |
| Pi-As 1,1      | 10           | 6,9                                       | 9,0 | 9,0 | 5000 <sup>3)</sup>  |

1) starke Bronzefleckenbildung

2) Blätter vertrocknet, Gespinste

3) untere Blätter vertrocknet, starke Bronzefleckenbildung

Hinweise über die Anfälligkeitsunterschiede der Genotypen übermitteln.

Methods are developed and tested for screening the resistance of wild and cultivated accessions of *Malus* to pests. The most important spider mites and aphids, especially *Panonychus ulmi* and *Tetranychus urticae* as well as *Aphis pomi* and *Dysaphis plataginea* are involved in these studies. The results are made available to the fruit breeders for their breeding program.

Im Gewächshaus wurden 8 Apfelsortklone und 4 Sorten auf Resistenz gegenüber der Gemeinen Spinnmilbe (*Tetranychus urticae*) und der Obstbaumspinnmilbe (*Panonychus ulmi*) untersucht. Hierzu wurden 4 bzw. 8 Wochen nach der Inokulation die Anzahl Milben / Baum

ermittelt und erstmals eine Symptombonitur (BN 1 - keine Befallssymptome bis BN 9 - Blattfall, z.T. noch sichtbare starke Bronzefleckenbildung, dichte Gespinste über mehrere Blattetagen) vorgenommen.

*Tetranychus urticae* (Tab. 1):

Wie bereits in den Vorjahren erwies sich 'Alkmene' als die anfälligste Sorte hinsichtlich der Anzahl Milben/Baum. Obwohl bei 'Releika' und 'Releta' deutlich geringere Milbenvermehrungsraten als bei 'Alkmene' beobachtet wurden, bestehen hinsichtlich der Symptomausprägung keine Unterschiede. 'James Grieve' erwies sich von den Sorten als die mit den geringsten Befallsymptomen. Eine mit 'James Grieve' vergleichbare Reaktion zeigten die Klone Pi-As 8,94 und Pi-As 1,123. Bei

Tab. 2: Bewertung von Apfelsorten und Zuchtklonen auf Resistenz gegenüber *Panonychus ulmi*

| Sorte / Klon | Anzahl Bäume | Symptombonitur (Wochen nach der Besiedlung) |     |     |     |     | Anzahl Milben/Baum  |
|--------------|--------------|---|-----|-----|-----|-----|---------------------|
|              |              | 4   | M   | 8   | V   | x   |                     |
| Releta       | 10           | 3,0   | 3,4 | 3,7 | 1,2 | 2,8 | 147                 |
| James Grieve | 10           | 2,8   | 4,0 | 4,8 | 2,5 | 3,8 | 46                  |
| Releika      | 10           | 5,3   | 5,0 | 5,0 | 3,5 | 4,5 | 290                 |
| Alkmene      | 9            | 3,4   | 5,0 | 4,6 | 5,5 | 5,0 | 188                 |
| Pi-As 1,11   | 9            | 2,0   | 3,0 | 3,6 | 1,0 | 2,5 | 22                  |
| Pi-As 1,123  | 9            | 2,2   | 3,3 | 3,9 | 1,0 | 2,7 | 52                  |
| Pi-As 8,94   | 10           | 2,0   | 4,5 | 3,2 | 1,2 | 3,0 | 114                 |
| Pi-As 33,105 | 9            | 2,8   | 3,6 | 3,3 | 1,0 | 2,6 | 146                 |
| Pi-As 33,106 | 9            | 2,6   | 3,0 | 3,3 | 1,6 | 2,6 | 113                 |
| Pi-As 1,98   | 10           | 3,4   | 5,0 | 4,0 | 2,5 | 3,8 | 76                  |
| Pi-As 1,2    | 10           | 3,8   | 5,0 | 6,2 | 6,6 | 5,9 | (220) <sup>*)</sup> |
| Pi-As 1,1    | 6            |   | 5,4 | 5,8 | 6,2 | 5,8 | (98) <sup>*)</sup>  |

\*) untere Blätter abgestorben

Pi-As 33,105 und Pi-As 33,106 wurden ähnliche Vermehrungsraten beobachtet. Diese beiden Klone reagierten aber mit stärkeren Befallssymptomen. Die übrigen Klone wurden als anfällig bewertet.

*Panonychus ulmi* (Tab. 2):

Im Vergleich zu den Infektionsversuchen mit *Tetranychus urticae* wurde in diesen Untersuchungen eine wesentlich geringere Milbenvermehrungsrate und damit verbunden eine deutlich verzögerte und reduzierte Symptomausprägung beobachtet. Die Sorte 'James Grieve' sowie Pi-As 1,123 und Pi-As 8,94 erwiesen sich wiederum als die Prüfnummern mit dem geringsten Milbenbefall. Bei Pi-As 1,11 traten zwischen beiden Milbenarten deutliche Differenzen in der Resistenzreaktion auf, die in weiteren Untersuchungen überprüft werden müssen. Pi-As 1,2 und Pi-As 1,1 sind insbesondere anhand der Symptomstärke als anfällig gegenüber *P. ulmi* einzustufen.

*Aphis pomi*:

In der Klimakammer wurde die Vermehrungsrate von *A. pomi* an verschiedenen Apfelsorten durch mehrfache Wiederholungen ermittelt. Diese Erhebungen wurden durch Beobachtungen an den gleichen Genotypen nach Spontanbefall im Freiland ergänzt. Die Sorten 'Gloster', 'Golden Delicious', 'Idared', 'Pinova' und 'Retina' wurden als anfällig gegenüber *A. pomi* bewertet. Dagegen war die Vermehrungsrate dieser Aphidenart bei den Sorten 'Reanda' und 'Remo' geringer.

Abstract:

Apple varieties and breeding material were tested in the greenhouse for resistance to the spider mites *Tetranychus urticae* and *Panonychus ulmi*. 4 or 8 weeks past inoculation respectively, the number of mites per tree and symptom expression were estimated. 'James Grieve', Pi-As 8,94, and Pi-As 1,123 were found to be the most tolerant apple forms to both spider mite species.

The apple varieties 'Gloster', 'Golden Delicious', 'Idared', 'Pinova' and 'Retina' were susceptible to *Aphis pomi*. A lower aphid development was observed on the varieties 'Reanda' and 'Remo'.

(BAZ-2313)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, BAZ, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz

054

## 2. Bakterien Bacteria

### 2.1. Virulenzanalyse und Selektion von Genotypen des Obstes mit Resistenz gegen Bakterien Analysis of virulence and selection of fruit genotypes with resistance to bacteria

Richter, K.; Fischer, C.

*Obstsorten mit dauerhafter Resistenz gegen Erwinia amylovora sollen selektiert werden. Jährlich werden Isolate von E. amylovora aus verschiedenen Regionen gesammelt und hinsichtlich ihrer Virulenz untersucht. Ein Gemisch aus mehreren hochvirulenten Isolaten wird zur Resistenzbewertung eingesetzt. Nach Triebinfektion im Gewächshaus werden resistente Formen selektiert. Die Blütenanfälligkeit von Obstgehölzen wird im Freiland getestet.*

*Fruit varieties with resistance to fire blight (Erwinia amylovora) will be selected. Every year isolates of E. amylovora from different regions are collected and tested for their virulence. A mixture of some strains will be used for the resistance evaluation. After shoot infection in the glasshouse resistant plants will be selected. The blossom susceptibility will be tested in the field.*

*Erwinia amylovora:*

Im Rahmen der jährlichen Virulenzanalyse wurden 51 *Erwinia amylovora*-Isolate aus der Bundesrepublik Deutschland, der Schweiz und Tschechien an den Sorten 'Prima' und 'Malus robusta No. 5' sowie am resistenten Zuchtstamm 4352 getestet. Die Isolate 197, 222 und 237 konnten als virulenteste bei den einzelnen Sorten ausgewählt werden (Tab. 1). Der Stamm 222 aus der Tschechischen Republik verursachte am 1994 völlig befallsfrei gebliebenen Zuchtstamm 4352 im Jahre 1995 geringen Befall. Es erweist sich als notwendig, jährlich neue *Erwinia amylovora*-Isolate für die Resistenztestungen zu sammeln und zu selektieren.

Für das Inokulationsgemisch sind die Stämme Ea 197, Ea 222 und Ea 237 ausgewählt worden.

Zur Ermittlung der Feuerbrandresistenz wurden 78 *Malus*-Zuchtstämme mit diesem Stammgemisch im Gewächshaus inokuliert. Der anfällige Standard, die Sorte 'Idared', wies einen Triebbefall von >100 % auf, das heißt, die Nekrosen breiteten sich bis ins ältere Holz aus (Tab. 2).

Die resistenten Sorten 'Remo' und 'Rewena' bewiesen erneut ihre Widerstandsfähigkeit.

Bei den einbezogenen Standard-Sorten zeigte sich eine gute Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Virulenzanalyse.

Insgesamt war im Vergleich zum Vorjahr ein mittlerer Resistenzgrad zu verzeichnen.

Acht Zuchtstämme erwiesen sich als resistent bis schwach anfällig (Boniturnoten 9..8).

Zwanzig Zuchtstämme reagierten dagegen hoch anfällig (Boniturnote 1..2).

Tab.1 Virulenz von *Erwinia amylovora*-Isolaten aus verschiedenen Wirtspflanzen, Triebinfektionen (% befallene Triebblänge) an verschiedenen Apfelsorten

| Isolat  | „Prima“     | <i>M. robusta</i><br>no. 5 | ZS 4352    | Herkunft  | Wirtspflanze       |
|---------|-------------|----------------------------|------------|-----------|--------------------|
| 77      | 56,7        | 72,1                       | 0          | USA, 1983 | <i>Malus</i>       |
| 91      | 13,9        | 0                          | 0          | D, 1985   | <i>Pyrus</i>       |
| 143     | 17,9        | 0                          | 0,7        | D, 1993   | <i>Cotoneaster</i> |
| 180     | 23,2        | 0                          | 0          | CH, 1993  | <i>Cotoneaster</i> |
| 197*/** | 19          | <b>13,3</b>                | 9,2        | D, 1994   | <i>Malus</i>       |
| 222*    | 32,5        | 0                          | <b>8,8</b> | CS, 1992  | <i>Cotoneaster</i> |
| 223     | 61,3        | 0                          | 0          | CS, 1993  | <i>Pyrus</i>       |
| 237*    | <b>73,4</b> | 0                          | 0,8        | D, 1994   | <i>Malus</i>       |
| 243     | 44,8        | 0                          | 5,2        | D, 1994   | <i>Malus</i>       |

verwendet

\* im Gemisch

\*\* als Einzelisolat im Freiland

Im Freiland waren gute Infektionsbedingungen (auch für Schorf) zu verzeichnen. Die 1995 getesteten Sorten 'Retina' und 'Releika' zeigten nur vereinzelte Blüteninfektionen, die sich aber nicht in die Äste ausbreiteten. Trotz des sehr hohen Infektionsdruckes beim Schorf (*Venturia inaequalis*) blieben die Früchte beider Sorten ohne Symptome.

#### *Agrobacterium tumefaciens*:

Die Testung der gegenwärtig zur Gehölzanzucht verfügbaren Obstunterlagen auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *Agrobacterium tumefaciens*, dem Erreger des Wurzelkropfes der Obstgehölze, wurde fortgesetzt.

Tab.2: Feuerbrandresistenz von Apfelsorten im Jahre 1995 (Triebinfektion, Gewächshaus, Veredlungen auf der Unterlage MM 106)

| Test-nummer | Sorte                 | inokulierte Triebe | Befall (%)  | Wertzahl |
|-------------|-----------------------|--------------------|-------------|----------|
| 441         | 'Idared'              | 40                 | 101,6       | 1,2      |
| 442         | ZS 181                | 40                 | 11,2        | 7,1      |
| 443         | ' <i>M. robusta</i> ' | 40                 | 3,7         | 8,7      |
| 444         | 'Prima'               | 40                 | <b>65,0</b> | 3,7      |
| 4431        | 'Idared'              | 40                 | 105,2       | 1,0      |
| 4432        | 'Remo'                | 36                 | 26,2        | 6,5      |
| 4434        | 'Rewena'              | 36                 | 13,8        | 7,2      |
| 4435        | <b>ZS 4352</b>        | 36                 | <b>9,5</b>  | 7,8      |

9 - gesund

Die erarbeitete Prüfmethode hat sich bewährt. Die Volumenbestimmung der Tumore erfolgte 1995 8 Wochen p.i. Im Vergleich zum Vorjahr blieben die Wucherungen kleiner. Beim Kirsch-Zuchtmaterial\* konnten die Ergebnisse des Jahres 1994 bestätigt werden. Auch bei *Malus* traten die gleichen Relationen auf. M9 zeigte mit Abstand die größten Tumore, M 26 in beiden Jahren den

geringsten Befall. Die Untersuchungen werden fortgesetzt.

#### Abstract:

*Erwinia amylovora*: Virulence analysis: In 1995 we selected the isolates 197, 222 and 237 as the most virulent on the three varieties (Table 1) and used them for the resistance evaluation. Whereas we had no infections in the resistance evaluation on the hybrid ZS 4352 in 1994 little shoot infections could be observed in the virulence test with the strain 222 from the Tschech Republic. It proves to be necessary to collect and select virulent *Erwinia amylovora*-isolates every year for the resistance evaluation according to the virulence development.

Resistance evaluation: 78 clones were inoculated in the glasshouse with the three strains as a mixture. Eight of these reacted resistant or low susceptible, 20 were highly susceptible. In the field we tested the varieties 'Retina' and 'Releika'. In spite of favourable conditions for fire blight and scab (*Venturia inaequalis*), we found only a few number of blighted blossoms after inoculation without spreading of the necrosis and no scab symptoms on the fruits.

*Agrobacterium tumefaciens*: The evaluation of resistance of rootstocks against crown gall (*Agrobacterium tumefaciens*) was continued. The volumes of tumors were measured 8 weeks p.i. In relation to the 1994 in 1995 year we found smaller tumors. In cherry rootstocks the results could be confirmed. In *Malus* the M9 was most damaged, M 26 only a little bit. The tests will be carried on. (BAZ-2323)

In Zusammenarbeit mit: Wolfram, BAZ, Inst. f. Obstzucht, Dresden-Pillnitz

**2.2. Resistenzinduktion durch Prämunisierung gegen bakterielle Erreger am Beispiel des Wirt/Pathogen-Systems Tomate/*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis***  
**Induction of resistance to bacterial causal agents by preimmunity in the host/pathogen system tomato/*clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis***

Griesbach, E.; Eisbein, K.

Bei den Untersuchungen zur Resistenzinduktion durch Prämunisierung von Tomatenpflanzen mit einem für Tomate avirulenten Isolat von *Cmm* werden Methoden und Techniken eingesetzt, um die Möglichkeiten der Auslösung und Optimierung des Prämunisierungseffektes auszuloten. Dabei werden einerseits vergleichende Analysen zur Morphologie und Biochemie des resistenzinduzierenden *Cmm*-Isolats mit aggressiven Stämmen und ihrer Ausbreitung in planta durchgeführt, andererseits aber auch Untersuchungen über Einsatzmöglichkeiten unter Praxisbedingungen. Die Ergebnisse sollen sowohl Hinweise auf Ursachen der Resistenzinduktion als auch Möglichkeiten zur praktischen Anwendung dieses Verfahrens geben.

Investigations with different isolates of *Cmm* will be conducted to measure the possibilities to produce and to optimize effects of resistance inducing *Cmm*-isolate and virulent *Cmm*-isolates with regard to morphology and biochemistry as well as their spreading in tomato plants. Simultaneously possibilities for the application under practical conditions will be investigated. The results should reveal causes for resistance induction and possibilities for practical application of these methods.

Aufbauend auf den Ergebnissen des Jahres 1994, daß

- eine Präinokulation mit dem für Tomate apathogenen Stamm NCPPB 3123 von *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* (*Cmm*) nur beim Wirt/Pathogen-System Tomate/*Cmm* resistenzinduzierend wirkt,
- die Resistenzinduktion nicht nur durch lebende, sondern gleichermaßen auch durch hitzegetötete Zellen des *Cmm* 3123 ausgelöst wird,
- der Grad der Abwehrreaktion wesentlich beeinflusst wird durch die für Prä- und Folgeinokulation gewählten Inokulationsstellen und die dazwischenliegenden Zeitintervalle,
- der resistenzinduzierende *Cmm* 3123 im Vergleich zu aggressiven *Cmm*-Stämmen bisher in isolierter Form sich nur durch zeitweilig weniger Bildung von extrazellulären Polysacchariden (EPS) mit einem sehr geringen Fucose-Anteil sowie im DNS-Bereich unterscheidet und in planta keinen Unterschied erkennen läßt,
- in Parenchymzellen des Leitgewebes von prämunisierten Pflanzen am Tonoplast und an Membranen von Zellorganellen auffallend häufig membranogene elektronendichte Partikeln (meP) gebildet werden,

dienten die diesjährigen Untersuchungen dem Ziel,

- a) die Bildung der meP weiter zu charakterisieren,
- b) die Wirkungsweise des *Cmm* 3123 detaillierter zu untersuchen,
- c) Möglichkeiten zu erarbeiten, die Ausbreitung des *Cmm* 3123 und aggressiver *Cmm*-Isolate innerhalb der Pflanze getrennt zu erfassen, und
- d) zu prüfen, ob der resistenzinduzierende Stamm 3123 samenübertragbar ist, d. h., auch in der Folgegeneration prämunisierend wirkt.

Zu a): Im Rahmen der Untersuchungen zur weiteren Charakterisierung der meP sollte zunächst geprüft werden, ob deren Bildung eine spezifische Reaktion der Tomatenpflanze auf die Prämunisierung mit *Cmm* 3123 ist oder ob diese generell nach Resistenzinduktion im System Tomate/*Cmm* zu beobachten sind.

Die für andere Wirt/Pathogen-Systeme bekannten Resistenzinduktoren (RI)  $\beta$ -Indolyllessigsäure und Probenazole erwiesen sich nach den verschiedensten Applikationsvarianten für das System Tomate/*Cmm* als unwirksam. Daher muß die Suche nach wirksamen RI fortgesetzt werden.

Entgegen bisheriger Beobachtungen, daß die meP nur in Zellen prämunisierter Tomatenpflanzen gebildet werden, wurden diese - jedoch in wesentlich geringerem Maße - auch bei Tomatenpflanzen gefunden, die nur mit aggressiven *Cmm* infiziert waren. Entsprechende Ergebnisse brachten die bisherigen zytologischen Untersuchungen bei Tomatenzellkulturen. Darüber hinaus konnten auch bei Co-Kultivierung von Tomatenzellen mit *Pseudomonas syringae* pv. *tomato* an Grenzmembranen des Protoplasmas sowie einiger Zellorganellen meP in geringer Anzahl beobachtet werden. Dies zeigt, daß die meP-Bildung nicht spezifisch für die Auslösung des untersuchten Prämunisierungseffektes ist, sondern möglicherweise eine beginnende Abwehrreaktion andeutet. Ob diese Partikeln, wie vermutet, phenolischer Natur sind, sollen weitere Untersuchungen ergeben.

Zu b): Beim Zustandekommen einer bakteriellen Infektion spielen bekanntlich Exoenzyme und EPS die entscheidende Rolle. Im Hinblick darauf prüften wir isolierte EPS des RI *Cmm* 3123 bzw. eines aggressiven *Cmm* als auch hitzegetötete *Cmm*-Zellen auf resistenzinduzierende Wirkung bei Tomatenpflanzen. Bisher zeigte sich, daß die EPS des *Cmm* 3123 sowohl nach Stengel- als auch nach Wurzelapplikation in etwa gleicher Intensität resistenzinduzierend wirken wie intakte lebende und auch hitzegetötete Zellen dieses Stammes.

Dagegen war weder nach Applikation hitzegetöteter Zellen von aggressiven *Cmm*-Isolaten noch von isolierten EPS eines aggressiven *Cmm* eine gesicherte resistenzinduzierende Wirkung feststellbar. Das deutet darauf hin, daß diese ganz spezifisch nur durch den *Cmm* 3123 ausgelöst wird. Nach Fraktionierung von dessen EPS soll geprüft werden, ob sich einzelne Fraktionen hinsichtlich einer resistenzinduzierenden Wirkung unterscheiden.

Zu c): Darüber hinaus hoffen wir, auch immunogene Fraktionen gewinnen und möglichst charakteristische Unterschiede zwischen den Fraktionen des *Cmm* 3123 und aggressiver *Cmm* finden zu können, um die einzelnen *Cmm*-Isolate - auch *in planta* - spezifisch markieren zu können.

Als weitere Unterscheidungsmöglichkeit prüften wir Fucose-spezifisches Lectin, das an Goldpartikeln konjugiert Fucose enthaltende Strukturen markiert. Erste Versuche zeigten bei Präparaten von aggressiven Isolaten, deren EPS reichlich Fucose enthalten, stellenweise eine intensive Goldmarkierung. Dagegen ließen sich die kaum Fucose aufweisenden EPS des apathogenen Stammes bisher nicht markieren.

Quantitative mikrobiologische Analysen zur Ausbreitung aggressiver *Cmm* in mit dem RI 3123 präinokulierten Tomatenpflanzen wurden mit Hilfe Antibiotikamarkierter *Cmm*-Isolate durchgeführt. Dabei zeigte sich, daß die Vermehrungsrate des RI 3123 nur etwa halb so groß ist wie die des aggressiven Isolats in unbehandelten Pflanzen. Dagegen vermehren sich aggressive *Cmm* in präinokulierten Pflanzen deutlich schwächer als in unbehandelten. Hervorzuheben ist, daß bei diesen Pflanzen die aggressiven *Cmm* in einer Dichte von  $10^8$  bis  $10^9$  Zellen je 5 mm Stengelabschnitt vorhanden sein können, ohne daß es zur Ausbildung von Welkesymptomen kommt. Bei dieser Erregerdichte sind nicht präinokulierte Pflanzen stark welkekrank.

Zu d): Um möglichst hochgradig mit *Cmm* kontaminiertes Saatgut zu erhalten, inokulierten wir jede Blütenstielachsel mit Erreger-Isolaten. Die bisherigen Untersuchungen zeigten, daß Früchte von mit aggressiven *Cmm* inokulierten Pflanzen sowohl im Fruchtsiel als auch im Kelchboden und Fruchttinneren ca. 100 % Erregerbefall aufweisen. Wesentlich geringer (zwischen 10 bis 20 %) war der RI 3123 in Fruchtsielen und Kelchböden und noch weniger im Fruchttinneren nachweisbar.

Dies macht deutlich, daß die Chance sehr gering ist, mit Hilfe von Blütenachselinjektion Saatgut zu erhalten, das mit dem RI 3123 kontaminiert ist. Daher soll versucht werden, durch Vakuumfiltration die Saatgutbesiedlung mit dem RI 3123 zu erhöhen, um prüfen zu können, ob auch auf diesem Wege eine Präinokulierung von Tomatenpflanzen möglich ist.

#### Abstract:

Investigations with different isolates of *Cmm* will be conducted to measure the possibilities to produce and to optimize effects of resistance inducing *Cmm* isolate and virulent isolates with regard to morphology and biochemistry as well as their spreading in tomato plants. Membranogene electron dense particles (meP) formed above all at tonoplast of parenchyma cells in vascular tissue, were seen frequently in preimmunized tomato plants. These meP also were found - but only in very few cases - in cells of tomato plants, inoculated only with virulent *Cmm*. Analogous are the results by tomato cell co-cultivations with *Cmm* and with *Pseudomonas syringae*

*pv. tomato*. Are these meP phenolic connections, that must be answered by additional investigations. Simultaneously, possibilities for the application under practical conditions will be investigated. The results should reveal causes for resistance induction and possibilities for practical application of these methods.

(BAZ-2322)

Projekt wird gefördert durch DFG.

In Zusammenarbeit mit: Krämer, Proll, Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben; Ramm, Müller, Völksch, Univ. Jena

056

### 2.3. Epidemiologische und Resistenzuntersuchungen am Wirt/Pathogen-System *Pelargonie* / *Xanthomonas campestris pv. pelargonii*

#### Epidemiological and resistance studies on the host/pathogen system *Pelargonium/Xanthomonas campestris pv. pelargonii*

Griesbach, E.

Alle bisherigen Versuche, *Xcp*-resistente Sorten zu züchten, verliefen erfolglos. Untersuchungen zur Ausbreitung und Populationsdynamik des Erregers bei verschiedenen *Pelargonien*arten bzw. unterschiedlichsten Kulturbedingungen sollen Hinweise auf besondere Kulturgefährdung, aber auch auf Möglichkeiten zur Unterbrechung der Infektionskette während der *Pelargonien*-produktion, geben. Darüber hinaus werden Methoden zur Resistenzevaluierung ausgewählter *Pelargonien*arten angewendet. Es ist zu erwarten, daß bei Wildformen Resistenzen gefunden und für die Züchtung nutzbar gemacht werden können.

Till now all attempts to breed cultivars with resistance against *Xcp* were unsuccessful. Studies on the spread and dynamics of the population of pathogen on different kinds of *pelargonium* under most diverse conditions of culture should give indications of specific danger of culture or other possibilities to interrupt the infection circle during the production of *pelargonium*. Over and above that methods are acquired for test of resistance and applicable to the evaluation of selected *pelargonium* species. It is expected that resistance could be found in wild varieties and can be utilized for resistance breeding.

In vergleichenden Virulenzanalysen mit *Xanthomonas campestris pv. pelargonii*-Isolaten (*Xcp*) verschiedenster Herkunft zeigten sich in der Regel gleiche Pathogenitätsunterschiede wie im Jahr 1994. Für Resistenzuntersuchungen an einigen Duftpelargonien wurden zwei der aggressivsten Isolate aus verschiedenen Regionen ausgewählt und als Gemisch (1 : 1) zur Inokulation verwendet. Im Hinblick auf z. T. sehr dünnsporige *Pelargonien*-Formen stellten wir die Schnittlinge für 1 h in Erregersuspensionen unterschiedlicher Dichte ( $10^2$ ,  $10^4$ ,  $10^6$  und  $10^8$  je ml), brachten sie in Erdtöpfen für ca. 2 Wochen unter Folie bei 80 bis 100 % relativer Luftfeuchte und ca. 25 °C und beließen sie danach unter „normalen“ Gewächshausbedingungen.

Im Vergleich zu 2 Linien von *Pelargonium zonale*, die bereits bei einer Inokulumdichte von  $10^2$  Zellen/ml anfangs lokale wasserdurchtränkte Flecke und später systemische Blatt- und Stengelläsionen ausbildeten, blieben die Duftpelargonien bis zu einer Erregerdichte von  $10^4$  Zellen/ml Inokulumsuspension symptomlos. Erst bei Inokulumdichten von  $10^6$  und  $10^8$ /ml waren bei 'Mrs. Kingsley', 'Clorinda' und 'Concolor lace' anfangs wasserdurchtränkte, später stärker nekrotisierende lokal begrenzte Läsionen ausgebildet. Nur sehr vereinzelt traten derartige Symptome auch bei 'Chocolate mint', 'Pink capitatum' und *Pelargonium blandfordianum* auf. Zeitlich gestaffelte mikrobiologische Analysen auf Erregerbesiedlung im unteren Stengelbereich der mit *Xcp* inokulierten Schnittlinge ergaben, daß

- die ermittelten Erregerdichten auch im Falle der beiden vergleichsweise mitgeprüften *P. zonale*-Linien nicht mit der Stärke der Symptomausbildung korrelieren,
- alle untersuchten Duftpelargonien etwa gleich stark besiedelt werden wie die beiden *P. zonale*-Linien, d. h. die geprüften Duftpelargonien *Xcp* weitgehend tolerieren.

#### Abstract:

Cuttings of different *Pelargonium* species and cultivars were screened for susceptibility to *X.c.pv. pelargonii*. Water soaked lesions on the leaves were observed among all varieties. But only in the case of tested *P. zonale* already at an inoculum concentration of  $10^2$ /ml and more. 'Mrs. Kingsley', 'Clorinda', 'Concolor lace', 'Chocolate mint', 'Pink capitatum', and *P. blandfordianum* developed localized symptoms only at an inoculum concentration of  $10^6$ /ml and more, but never leaf wilt or stem rot as the both lines of *P. zonale*. Microbiological analysis taked that the number of *Xcp* recovered from the stems of all tested *Pelargonium* did not show appreciable differences.

(BAZ-2328)

In Zusammenarbeit mit: Krämer, Naumann, Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben; Müller, Brielmeier-Liebetanz, BBA, Braunschweig  
057

### 3. Pilze

#### 3.1. Untersuchungen zur Epidemiologie von *Drechslera teres* an Gerste und Selektion von resistentem Ausgangsmaterial

##### Studies on the epidemiology of *Drechslera teres* in barley and screening of barley genotypes resistant to net-blotch

Kopahnke, D.

Die Züchtung auf Netzfleckenresistenz bei Gerste wird durch mehrere Probleme erschwert: durch das Auftreten unterschiedlicher Typen des Erregers (Netz- und Fleck-Typ) und durch das Vorhandensein von Isolatn mit sortenspezifischen Virulenzen (Rassen). Zur eindeutigen Isolatecharakterisierung ist ein Differentialsortiment für Deutschland aufzubauen. Das ist eine Voraussetzung für ein Screening in Kultur- und Wildpflanzensortimenten mit definierten Erregerisolaten zur Auffindung von Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit. Vorhandene Selektionsmethoden sind zu verbessern oder neu zu entwickeln. Für die Züchtung ist resistentes Basismaterial bereitzustellen.

The breeding of barley to net blotch resistance is very difficult because of several problems the occurrence of different types of the pathogen (net-type, spot-type) and the occurrence of isolates with genotype specific virulence gene (races). We need a differential set to characterize the isolates in Germany. The characterization of isolates is necessary for the screening in cultivated and wild plants to find resistance sources. Selection methods are to develop and to improve. Resistant material is to be handed over to the breeders.

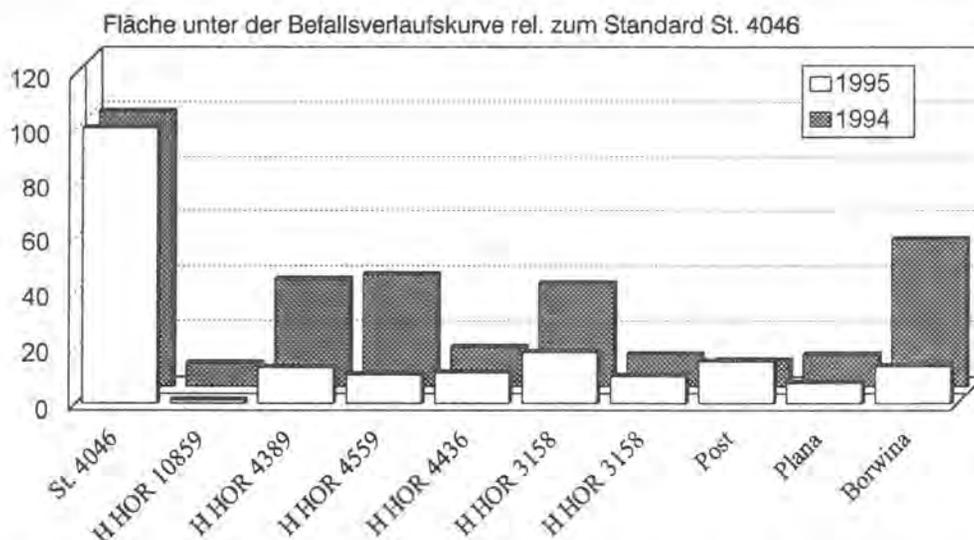


Abb. 1. Resistenzverhalten BYDV-toleranter Wintergersten gegenüber *Drechslera teres* nach 2-jähriger Prüfung im Sommersuch

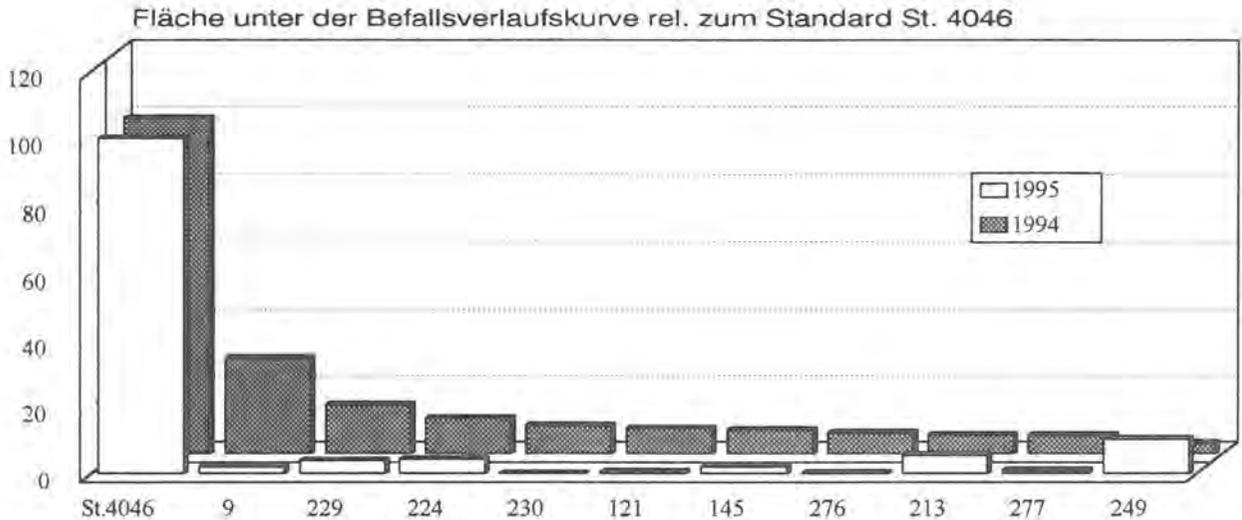


Abb. 2: Resistenzverhalten eines vorselektierten Sortimentes von *Hordeum spontaneum* gegenüber *Drechslera teres* nach zweijähriger Prüfung im Sommersversuch

Die Freilandresistenzprüfung gegen *Drechslera teres* wurde im zweiten Jahr als 'Sommerversuch' durchgeführt.

Es wurde das 100 Prüfglieder umfassende Sortiment von 1994 in einfaktorier Blockanlage mit 4 Wiederholungen zur Überprüfung des methodischen Ansatzes erneut angebaut. Das Sortiment umfaßt Genotypen mit zum Teil beschriebener Resistenz und ist weiterhin so zusammengesetzt, daß hinsichtlich des Resistenzverhaltens eine hohe Variabilität vorhanden ist, um Auswirkungen der zeitlich verschobenen Prüfung auf Erreger und Genotypen nachvollziehen zu können.

In der gleichen Versuchsanlage wurden im Rahmen der Resistenzevaluierung erstmalig 90 Formen des Gaterslebener Sortimentes als Vorscreening in zweifacher Wiederholung geprüft. Eine weitere Prüfung im Gewächshaus mit definierten Isolaten wird sich anschließen.

Die extreme Trockenheit zum Zeitpunkt der Aussaat (3.8.95) verzögerte das Auflaufen des Getreides und durch eine im Vergleich zu den Vorjahren geringere Taubildung ist eine zügige epidemische Entwicklung des Erregers unterdrückt worden. Erst 6 Wochen nach der Aussaat war der Standard mit 10...20% der Blattfläche erkrankt; 1994 war das bereits nach 3 Wochen erreicht.

Die Bonitur wurde am 26.10.95 abgeschlossen. Wie 1994 ergab sich aus der Varianzanalyse ein signifikanter Einfluß der Sorten auf den Befall. Die Korrelation zwischen beiden Jahren beträgt  $r=0,78$ . Bedingt durch den schwächeren Befall 1995 lassen sich weniger Genotypen signifikant unterscheiden.

Um Basismaterial mit kombinierter Resistenz gegen das BYDV und *D. teres* (Abb. 1) bereitstellen zu können, sowie zur Einlagerung von Resistenz gegen die Netzfleckenkrankheit in aktuelle Sorten, wurden weitere 10 Kreuzungskombinationen erstellt. Von 5  $F_1$ -Generationen werden zur Zeit DH-Linien hergestellt.

Das Ergebnis einer Selektion in einem Sortiment von 380 Genotypen der spec. *Hordeum spontaneum* zeigt Abbildung 2. Es sind 59 Genotypen, die im Blattseg-

menttest gegenüber vier Netztyp- Isolaten von *D. teres* resistent waren, unter Freilandbedingungen weiter geprüft worden. Die 10 Genotypen mit dem höchsten Resistenzgrad wurden im 'Sommerversuch' 1994 und 1995 getestet und haben ihr gutes Resistenzniveau bestätigt.

Abstract:

A collection of 380 samples of *Hordeum spontaneum* was evaluated on resistance to *Drechslera teres*. The 10 genotypes with the highest resistance were tested in 1994 and 1995 in a specific test 'summertrial'. 20 winter barley genotypes with tolerance against BYDV and 90 spring barley accessions were also tested under field conditions for resistance against *D. teres*. For estimation the level of resistance in the field trials the disease progress curve was determined.

(BAZ-2304)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben; Pickering, Crop & Food Research, Christchurch, Neuseeland; Habekuß, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

058

### 3.2. Untersuchungen zur Virulenzanalyse und Selektion von resistentem Ausgangsmaterial bei der Wirt/Phathogenkombination Weizen/*Puccinia recondita*

**Analysis of virulences and selection of resistant material in the host/pathogen combination wheat/*Puccinia recondita***

Walther, U.

Bestimmung der Virulenzhäufigkeit des Braunrostes durch Untersuchungen von Pilzpopulationen aus Zuchtgärten in Deutschland (jährlich 50 Populationen, 150 Einzelpustellinien). Selektion resistenter Ausgangsformen bei Weizen aus Genbankmaterial; qualitative Resistenz - Keimpflanzentest mit definierten Erregerisolaten;

*quantitative Resistenz - Ermittlung von Befallsverläufen in mehrjährigen Feldversuchen bei künstlicher Infektion.*

*Determination of percentage of virulence of Puccinia recondita in fungi populations collected in nurseries of Germany (per annum 50 populations, 150 single pustules lines). Selection of resistant wheats from gene bank material; qualitative resistance - seedlings-tests with defined pathogen isolates; quantitative resistance disease progress curve compiled over several years of field trials by artificial infection.*

Im Jahr 1995 wurden 67 Braunrostpopulationen (*Puccinia recondita*) aus 17 verschiedenen Orten (Zuchtgärten und Prüfstationen) auf dem Differentialsortiment nahe-isogener Thatcherlinien untersucht. Folgende Virulenzgene wurden bestimmt:

- in allen Herkünften: Lr10, Lr11, Lr12, Lr16, Lr21, Lr30 und Lr33,
- in der Mehrzahl der Herkünfte, d. h. mit einer Häufigkeit von 88...98,5%: Lr2b, Lr2d, Lr13, Lr15, Lr17, Lr18, Lr22A, Lr28, Lr30 und die Virulenz für 'Weique' und 'Salzmünder Bartweizen',
- mit einem Anteil von 60...70%: Lr2a, Lr2c, Lr3, Lr3bg und Lr3ka,
- mit einem Anteil von 30...40%: Lr23 und erstmalig Lr19 (letzteres meist mit dem Pusteltyp 2 mit starken Chlorosen),
- mit einem Anteil von 10%: erstmalig Lr1, aber nur sehr kleine Pusteln, starke Nekrosen und Chlorosen;
- für Lr9 wurde keine Virulenz gefunden.

Das Resistenzgen Lr1 wurde im Gegensatz zu den Jahren 1993 und 1994 erstmalig an einigen Orten (Nordrhein-Westfalen, Sachsen-Anhalt und Bayern) überwunden. Auch wenn in jedem Fall nur sehr kleine Pusteln, umgeben von Nekrosen und starken Chlorosen, beobachtet wurden und eine weitere Vermehrung auf der Thatcherlinie mit dem Gen Lr1 nicht möglich war, kann mit einer Zunahme dieser Virulenz in den Folgejahren gerechnet werden. Für Lr19 wurde bereits 1994 an 3 Orten Virulenz gefunden. 1995 nahm diese Virulenz deutlich zu (30% der Populationen). Neben dem niedrigen Infektionstyp 2 wurde bei 5 untersuchten Populationen der anfällige Infektionstyp 3 bonitiert.

Im Jahr 1995 wurde ein 500 Sippen umfassendes Weizensortiment der Genbank Gatersleben im Keimpflanzenstadium mit 6 definierten Isolatn und im Feld bei künstlicher Infektion geprüft. Das Material stammte aus einer Sammlung aus China. Es konnten keine Sippen mit qualitativer oder quantitativer Resistenz gegen *P. recondita* gefunden werden.

Abstract:

In 1995 67 populations of *P. recondita* were tested on the differential set of near isogenic Thatcher lines. Following virulence genes were determined with a percentages of: 100% - Lr10,11, 12, 16, 21, 30 and 33, 88...98,5% - Lr2b, 2d, 13, 15, 17, 18, 22A, 28, 30, 'Weique' and 'Salzmünder Bartweizen', 60...70% - Lr 2a, 2c, 3, 3bg

and 3ka, 30...40% - Lr23, 19 ( only very small pustules with very strong chloroses), 10% - Lr1 (very small pustules, chloroses and necroses). A multiplication of isolates virulent to Lr1 and Lr19 on the compatible Thatcher lines was not successful.

In 1995 500 samples of wheat from the Gatersleben collection, collected in China, were tested in the seedling stage with defined isolates and in field trials by means of artificial infection. No sample was found with quantitative or qualitative resistance.

(BAZ-2307)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben; GFP, AG Getreide  
059

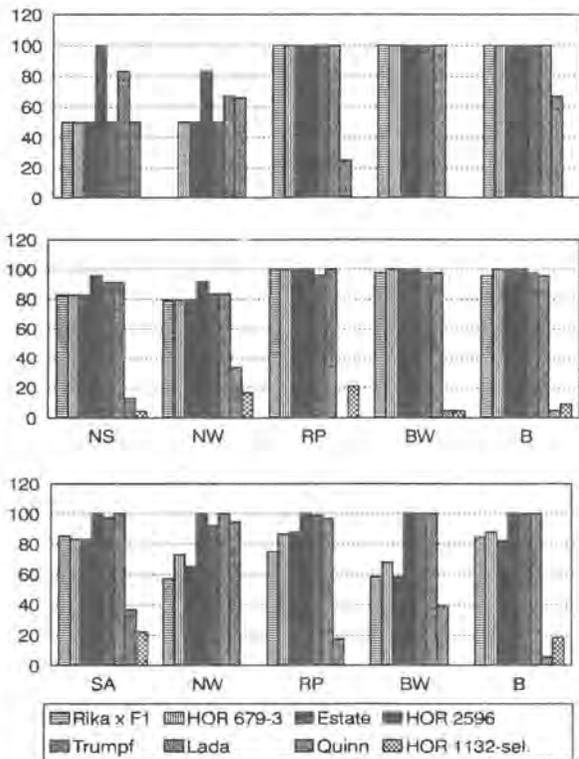
### 3.3. Virulenzanalyse und Selektion von resistentem Ausgangsmaterial bei der Wirt / Pathogenkombination Gerste/*Puccinia hordei*

**Virulence analysis and selection of resistant material in the host/pathogen-combination barley/*Puccinia hordei***  
Walther, U.

*Bestimmung der Virulenzhäufigkeit des Zwergrostes durch Untersuchung von Pilzpopulationen aus Deutschland und Nachbarländern (jährlich ca.150 Populationen und ca. 350 Einzelpustellinien). Selektion resistenter Ausgangsformen bei Gersten aus Genbankmaterial; auf qualitative Resistenz - Keimpflanzenztests mit definierten Erregerstamm; auf quantitative Resistenz - Ermittlung von Befallsverläufen in mehrjährigen Feldversuchen und mittels Blattsegmenttest. Erstellung von Basismaterial durch Einkreuzen von Wildformen in Kulturgersten.*

*Determination of percentage of virulences of Puccinia hordei in fungi-populations from Germany and neighbouring countries (per annum 150 populations and 350 single pustules lines). Selection of resistant barleys from gene banks; for qualitative resistance - seedling tests with defined isolates; for quantitative resistance - disease progress curve in several years of field trials and by means of the leaf segment tests. Transfer of quantitative resistance from wild barley in cultivars.*

Bei der Bestimmung von 46 Populationen und 285 Einzelpustellinien, die vorwiegend in Deutschland, aber auch in Österreich, Frankreich, Dänemark und Großbritannien, gesammelt wurden, konnten Virulenzen für die Resistenzgene Rph1, Rph2, Rph4, Rph2+Rph6, Rph8, Rph9 sowie für die Differentialsorten 'Trumpf', 'Lada' und 'HOR 500-1' mit 90...100 % Häufigkeit nachgewiesen werden. Im Gegensatz zu 1992 und 1993 wurden 1995, ähnlich wie 1994, nur geringe regionale Unterschiede für das Vorkommen der Virulenz für 'Trumpf' und 'Lada' beobachtet. Im Gegensatz zu 1994 mit ca. 80 % Anteil der Rph3-Virulenz in allen in Deutschland gesammelten Populationen, traten 1995 regionale Unterschiede in der Häufigkeit dieser Virulenz auf (Abb1). Für die Häufigkeit der Virulenz für die Gene Rph2+Rph5 zeigt sich ein deutliches Nord-Süd-Gefälle. Dieses kann, da Sorten mit entsprechender Resistenz nicht im Anbau



NS-Niedersachsen, NW-Nordrhein- Westfalen, RP-Rheinland-Pfalz, BW-Baden- Württemberg, B-Bayern, SA-Sachsen Anhalt

Abb. 1: Regionale Unterschiede in der Häufigkeit von Virulenzgenen des Gerstenzwergrostes in Deutschland in den Jahren 1992, 1994 und 1995

sind, nur durch die sehr verschiedenen Witterungsabläufe erklärt werden (im Norden = sehr heiß, keine Niederschläge; im Süden = sehr warm, aber ausreichend Feuchtigkeit). Ähnlich dürfte das unterschiedliche Auftreten der Virulenz für HOR 1132-sel. zu erklären sein. Letztere wurde 1995 erstmalig in Großbritannien in 3,7 % der untersuchten Einzelpustellinien nachgewiesen. Interessant ist auch, daß bei zeitlich gestaffelten Probenahmen von einem Ort deutliche Veränderungen in der Virulenzhäufigkeit beobachtet wurden.

Analog zu den Vorjahren war auch 1995 die Komplexität der Virulenz der Isolate bzw. Populationen in Deutschland hoch. Die hochvirulenten Isolate 717677 und 757677 haben in allen Regionen einen Anteil von 50...75%. Die Untersuchungen einer repräsentativen Anzahl Einzelpustellinien von 1992...1995 bestätigen auch für 1995 eine signifikante Angleichung der Virulenzgenzusammensetzung der Zwergrostpopulationen in den obengenannten Ländern. Das Resistenzgen Rph7 blieb im Untersuchungsgebiet voll wirksam.

Als Abschluß der ersten Etappe der Arbeiten zur Einlagerung partieller Zwergrostresistenz aus den Wildgersten AC 3612, HOR 1063, HOR 3034, HOR 3564, HOR 3817, HOR 3818, HOR 4284, HOR 4414, 'Rabat' und 'Nepal 81' in die Sorten 'Salome' bzw. 'Krona' wurden 870 Linien mit einem Resistenzniveau besser/gleich 'Vada' zur mehrortigen Prüfung an Züchtungsbetriebe

abgegeben. Das Material ist 1995 in einem Projekt gemeinsam mit der AG Getreide der GFP mehrortig in verschiedenen Gebieten und damit unter verschiedenen Umweltbedingungen auf Stabilität der Resistenz geprüft worden. Weiterhin wurden 1994 500 Gerstensippen des Gaterslebener Sortimentes im Keimpflanzenstadium mit definierten Rassen und im Feld bei künstlicher Infektion geprüft. Sippen mit wirksamer vertikaler Resistenz wurden nicht gefunden, aber im Feldversuch wurden 44 Sippen mit guter quantitativer Resistenz für weitere Prüfungen selektiert.

#### Abstract:

In 1995 in Germany, Austria, France, Denmark, and The United Kingdom 46 populations and 285 single pustules lines were collected and determined on the differential set. Virulence to Rph1, 2, 2+6, 8, 9, 'Trumpf', 'Lada' and HOR 500-1 was found with a percentage of 90...100%. Similar as 1994 in 1995 only very small regional differences of virulence to 'Trumpf' and 'Lada' were observed, but the frequency of virulence to Rph3 was regionally different. Conditioned by the different environmental conditions in the north and the south of Germany are differences in the frequency of virulence of Rph2+5 and HOR 1132-sel.. In 1995 virulence to HOR 1132-sel. was found first in UK (3,7 %). The high virulent isolates 717677 and 757677 determined the populations with a frequency of 50...75 %. The situation was in all countries very similar. The gen Rph7 was high effective.

In a common project with the breeders 870 lines from a program of breeding on quantitative resistance to leaf rust were tested in different environmental conditions. Besides 44 samples with a high level of quantitative resistance were selected from 500 samples of the Gatersleben collection.

(BAZ-2302)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben; Felsenstein, TU München

060

#### 3.4. Charakterisierung der Resistenz im Rahmen der Wertprüfungen des Bundessortenamtes für die Wirt-/Pathogenkombinationen Winter- und Sommergerste/*Puccinia hordei*, Winter- und Sommerweizen/*Puccinia recondita*

Determination of resistance in the examination of assortments carried out for the Bundessortenamt (Federal Office of Plant Varieties) for the host/pathogen combinations winter and spring barley/*Puccinia hordei* and winter and spring wheat/*Puccinia recondita*

Walther, U.

Charakterisierung von Sorten und Zuchtmaterial (Weizen und Gerste) auf vertikale und quantitative Resistenz gegen *Puccinia hordei* (Winter- und Sommergerste) und *Puccinia recondita* (Winter-, Sommerweizen und Triticale); vertikale oder qualitative Resistenz - Prüfung im Keimpflanzenstadium mit definierten Erregerisolaten;

quantitative Resistenz - Ermittlung von Befallsverläufen im Feldversuch bei künstlicher Infektion. Hoheitsprüfung für BBA.

Characterization of cultivars and breeding material (wheat and barley) on resistance to *Puccinia hordei* (winter and spring barley) and *P. recondita* (winter and spring wheat, Triticale); vertical or qualitative resistance - seedling tests with defined isolates; quantitative resistance - determination of the area under the disease progress curve in field trials with artificial infection.

Es wurden 116 Wintergersten und 74 Sommergersten im Keimpflanzenstadium mit 4 definierten Isolaten auf vertikale und im Feldversuch bei künstlicher Infektion mit einem aktuellen Rassengemisch auf partielle Resistenz geprüft. Für viele Wintergersten wurde keine vertikale Resistenz gefunden. In einer Reihe von Sorten und Linien wurden die Resistenzgene Rph1, Rph2 und Rph3 bestimmt. Diese Gene sind für die meisten Pathogenisolate nicht effektiv. Im Versuchsfeld war der Befall sehr niedrig, da, bedingt durch extrem starke Niederschläge Ende Mai/Anfang Juni, die Wintergerste stark lagerte und nur kurz vor der Abreife Befall am Fahnenblatt bewertet werden konnte. Trotzdem war eine Differenzierung möglich, und 65 Linien waren signifikant besser als der anfällige Vergleich 'Vogelsanger Gold'.

In den Sommergerstensorten wurden die Gene Rph1 und Rph2 bestimmt. Für eine große Anzahl Prüfmuster wurden die Resistenzgene 'Trumpf', Pa3 und die Kombination beider Gene ermittelt. Im Feldversuch waren 19 Prüfmuster signifikant schlechter als der Standard 'Vada'. Bedingt durch die zunächst sehr kühle Witterung und die dann durch die Hitze sehr schnell einsetzende Abreife der Sommergerste war der Befall nur moderat. Es konnte kein Stamm „besser als 'Vada'“ gefunden werden. Eine deutliche Erhöhung des Resistenzniveaus der Sorten im Vergleich zur ebenfalls im Sortiment enthaltenen Sorte 'Trumpf' zeigt sich in Abbildung 1.

Im Gegensatz zu 1993 war das durchschnittliche Resistenzniveau der Neuzüchtungslinien 1995 nicht mehr signifikant schlechter als das der feldresistenten Standardsorte 'Vada'. In Abbildung 2 wird deutlich, daß die Verbesserungen des Resistenzniveaus in den letzten drei Jahren in erster Linie durch eine Verlängerung der Latenzperiode erreicht wurden. Die Befallsverläufe der Sorten (Abb.1) spiegeln wider, daß eine erfolgreiche Selektion auf die Merkmale „Latenzperiode“ und „niedriger Endbefall“ zu einer erheblichen Verbesserung des Resistenzniveaus der Sommergerste geführt hat.

Auf Braunrostresistenz wurden 123 Winterweizen, 27 Sommerweizen und 20 Triticale getestet. Analog zur Gerste erfolgte die Keimpflanzenprüfung mit 7 definierten Isolaten unter kontrollierten Bedingungen und die Feldprüfung bei künstlicher Infektion mit einem Rassengemisch aktueller Weizenbraunrostisolate. Trotz anfänglich verzögerter Krankheitsentwicklung war der Befall im Versuchsfeld sehr stark. Bei Winterweizen wurden neben 2 Stämmen mit wirksamer vertikaler Resistenz auch solche bestimmt, die bei völliger Anfälligkeit gegen

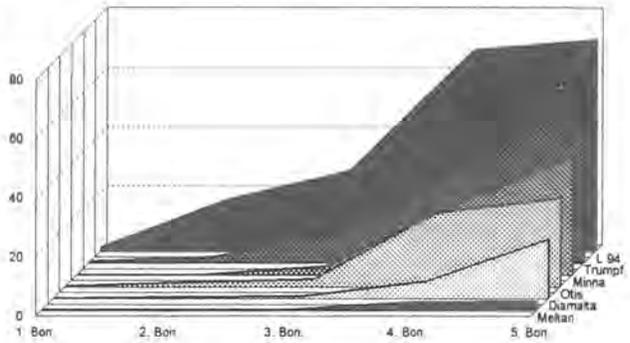


Abb. 1: Verbesserung des Resistenzniveaus in der Sommergerstenzüchtung, dargestellt anhand der Befallsverläufe aktueller Sorten im Vergleich zu 'Trumpf' und einem anfälligen Standard

alle in der Keimpflanzenprüfung genutzten Isolate im Feld als erwachsene Pflanze nur geringfügig befallen waren. Im Vergleich zum Sortimentsmittel wurden 30 Sorten oder Linien als signifikant besser bewertet. Die geprüften Sommerweizen waren mit Ausnahme zweier Stämme anfällig. Bei Triticale wurde nur auf 'Lasko', 'Dato', 'Angus' und 2 Linien leichter Befall beobachtet. Hierzu muß bemerkt werden, daß die Triticale-Prüfung ausschließlich mit einem Gemisch aktueller Weizenbraunrostisolate erfolgte.

Im Rahmen der Versuchsauswertung wurde außerdem der Befall der Prüfmuster durch andere Krankheitserreger (bes. Gelbrost und *Septoria tritici*) registriert.

#### Abstract:

Characterization of cultivars and breeding material (cereals) on resistance to *Puccinia hordei* (winter and spring barley) and *P. recondita* (winter and spring wheat, triticale) was carried out on order of the Bundessortenamt (Federal Office of Plant Varieties). 116 winter and 74 spring barley cultivars or lines were tested with 4 determined isolates of *P. hordei* in the seedling stage and in the nursery by means of artificial infection. In many lines were determined the genes Rph1, 2, 3, 'Trumpf', and the combined resistance 'Trumpf'+Rph3. In the field trials the area under the disease progress curve was determined. The level of quantitative resistance of spring barley has increased in the last years, the different characteristics of this kind of resistance were proved.

The tests to *P. recondita* were carried out in the seedlings stage with 7 determined isolates and in the field by means of artificial infection with a race mixture. 30 cultivars or lines were significant better as the means of the assortment. The most spring wheat were susceptible. 3 cultivars of triticale possess a low percentage of attacked leaf area.

(BAZ-2319)

In Zusammenarbeit mit: Bartels, BBA, Braunschweig; Bundessortenamt, Hannover

061

### 3.5. Versuche zur QTL-Analyse quantitativer Braunrostresistenz bei Gerste und deren Nutzung in der Gerstenzüchtung mit Hilfe von Doppelhaploiden

**Experiments on QTL-analysis of quantitative resistance to leaf rust and its application to the breeding of barley by means of double haploids**  
Walther, U.; Kicherer, S.

*DH-Linien aus einer Kreuzung der Sorte 'Krona' mit der Wildgerstenlinie 'HOR 103' werden unter Feld- und Laborbedingungen auf quantitative Resistenz gegen Zwergrost geprüft und einer RFLP-Analyse unterzogen. Ziel ist es, über die QTL-Analyse Marker für die quantitative Resistenz der Gerste gegen Zwergrost zu finden.*

*Double haploid lines from a cross of the cultivar 'Krona' with the wild barley line 'HOR 1063' are assessed for quantitative resistance to leaf rust under field and laboratory conditions and subject to a RFLP analysis. The target is to find markers for the quantitative resistance to barley leaf rust using QTL mapping.*

1995 wurde das umfangreiche Material - bestehend aus DH-Linien der Kreuzung 'Krona' x 'HOR 1063' - auf 220 Linien eingeschränkt. Die Resistenzprüfungen wurden mittels Blattsegmenttest mit der Rasse 'I-80' und in Feldversuchen an zwei Standorten durchgeführt, wovon ein Versuch wegen unzureichender Infektion nicht auswertbar war. Bei dem anderen Versuch wurden neben der Resistenz Daten zum Wuchstyp, Zeitpunkt des Ährenschiebens, Tausendkorngewicht und zur Zeiligkeit erhoben. Die statistische Auswertung ergab, daß 29 Linien signifikant weniger anfällig waren als das Versuchsmittel.

Die molekularbiologischen Arbeiten wurden unter Einbeziehung der im Feld getesteten 220 DH-Linien fortgesetzt, d. h. von dem Material wurde die DNA isoliert, mit fünf Enzymen geschnitten, über alkalischen Transfer an Membranen gebunden und mit den zuvor auf Polymorphismus in der Kreuzung 'Krona' x 'HOR 1063' getesteten Sonden hybridisiert. Gegenwärtig stehen 68 polymorphe Sonden zur Verfügung. Von 32 Sonden liegen bisher Ergebnisse aus Linienhybridisierungen vor.

#### Abstract:

220 double haploid lines from a cross of the cultivar 'Krona' with the wild barley line 'HOR 1063' were assessed for quantitative resistance to leaf rust under field and laboratory conditions. Field tests were performed in two different environments. Only one trial could be evaluated. The material was also subjected to a RFLP-analysis. There are 68 probes available showing polymorphism between the parent lines. Currently hybridisation results of 32 probes with DH-lines are available. The target is to find markers for quantitative resistance to barley leaf rust using QTL mapping.

(BAZ-2303)

In Zusammenarbeit mit: Jahoor, Fischbeck, TU München/Weißenstephan

062

### 3.6. Erarbeitung einer Methode zum quantitativen Nachweis von *Puccinia hordei*-Myzel in Blättern von Sommergerste-Genotypen zum Zweck der Resistenzbewertung

**Development of a method for the quantitative determination of mycelium of *Puccinia hordei* in leaves of spring barley genotypes for the evaluation of resistance**

Walther, U., Müller, D.

*Ziele des Projektes: Erarbeitung von Standardmethoden zur Resistenzdifferenzierung auch in umfangreichem Material; Aussagen zu Resistenzabläufen, wie Enzymaktivitäten von Pilz und Pflanze, und Ermittlung der Beziehung bestimmter Stoffwechselprodukte zum ermittelten Resistenzniveau. Weitere Schwerpunkte sind: Werden Proteaseaktivitäten des Zwergrosterregers oder der Pflanze gemessen? Etablierung der Differenzierungsmethode und Standardisierung des Verfahrens; Suche nach geeigneten Aminosäurefraktionen zur Resistenzdifferenzierung bei zwergrostanfälligen und resistenten Gerstenlinien.*

*The aims of the project are: creation of a standard method for resistance, e.g. enzymatic activities of the pathogen and of the plant, investigation of the relations of special metabolites to the determined levels of resistance. The following problems are considered: the protease activities of the plant or of the pathogen are measured; validation and standardization of the method; search for suitable aminoacid fractions for the distinction of genotypes of spring barley with different levels of resistance to *Puccinia hordei*.*

Für die exakte Beurteilung von quantitativer Resistenz bei der Wirt-Pathogen-Kombination Sommergerste-Zwergrost reicht die Genauigkeit der traditionellen visuellen Boniturmethode häufig nicht mehr aus. Mit einem einfach zu handhabendem Test zur Quantifizierung hydrolytischer pilzlicher Enzyme in der Wirtspflanze (WIRTH und WOLF, 1990) bot sich eine einfache Methode zur Ermittlung der Zwergrostmyzelmasse im Wirtsgenotyp und damit dessen Anfälligkeit gegenüber diesem Erreger an.

In ersten Untersuchungen an einem Standardsortiment wurde gezeigt, daß mit diesem Test über die Messung der Proteaseaktivität in der interzellulären Waschflüssigkeit (IWF) aus zwergrostinfizierten Primärblättern von Sommergersten-Genotypen eine Zuordnung zu verschiedenen Anfälligkeitklassen möglich ist. Im Jahre 1995 wurde ein Sortiment von 170 DH-Linien mittels dieses Enzymtestes überprüft. Dazu erfolgte die künstliche Infektion der DH-Linien mit dem hochvirulenten Zwergrostisolat I 80. Sieben Tage nach der Inokulation, dem Zeitpunkt des Sichtbarwerdens der Rostpusteln am hochanfälligen Standard L 94, wurde der Test durchgeführt. Im Ergebnis dieser Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß ein hoher Anteil der geprüften Linien „schwach anfällig“ (Aktivität > 10 % über HOR 1132) bzw. "anfällig" (Aktivität > 50 % über HOR 1132) zuzuordnen war. Nur 13 % erwiesen sich danach als "resistent"

(Aktivität entspricht der bei HOR 1132 gemessenen), 16 % waren als stark anfällig einzustufen (Aktivität > 100 % über HOR 1132, entsprach Niveau von L 94)(Abb. 1). Der Vergleich dieser Resultate mit den Ergebnissen, die mit diesen DH-Linien in Freilanduntersuchungen nach künstlicher Infektion mit einem Zwergrost-Rassengemisch erhalten wurden, ergab für einen großen Teil der mit dem Enzymtest als resistent bzw. stark anfällig eingestuften Linien gute Übereinstimmungen.

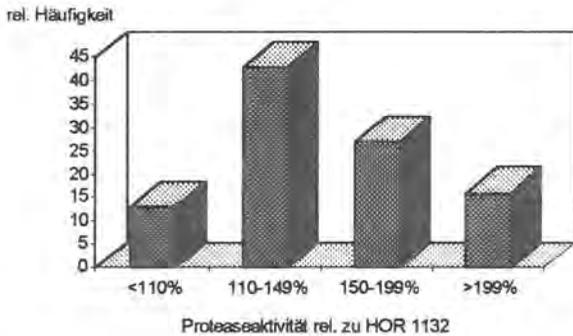


Abb.1: Zuordnung von 170 Sommergersten-DH-Linien zu verschiedenen Protease-Aktivitätsgruppen (ermittelt im IWF aus zwergrostinfizierten Primärblättern)

Abstract:

By means of the measurement of the protease activity in the primary leaves with an enzyme assay it was possible to classify *Puccinia hordei*-infected summer barley DH-lines into different classes of susceptibility. For many as resistant or very susceptible recognized lines the outcomes from the enzyme assay are good correlated with the results from a field experiment.

(BAZ-2327)

In Zusammenarbeit mit: Wolf, Univ. Göttingen  
063

### 3.7. Evaluierung eines Sortiments von *Hordeum spontaneum* auf Resistenz gegen *Puccinia hordei* und *Erysiphe graminis*

Evaluation of a collection of *Hordeum spontaneum* for resistance to *Puccinia hordei* and *Erysiphe graminis*

Walther, U.; Prochnow, J.

Evaluierung eines 500 Sippen umfassenden Sortiments von *Hordeum spontaneum* auf quantitative und qualitative Resistenz gegen *Puccinia hordei* und der als resistent selektierten Sippen auf Resistenz gegen *Erysiphe graminis*. Die Erfassung der qualitativen Resistenzen erfolgt mit definierten Isolaten beider Pathogene im Gewächshaus als Keimpflanzentest. Die Isolate des Erregers *P. hordei* aus der Pathogenbank des Institutes werden

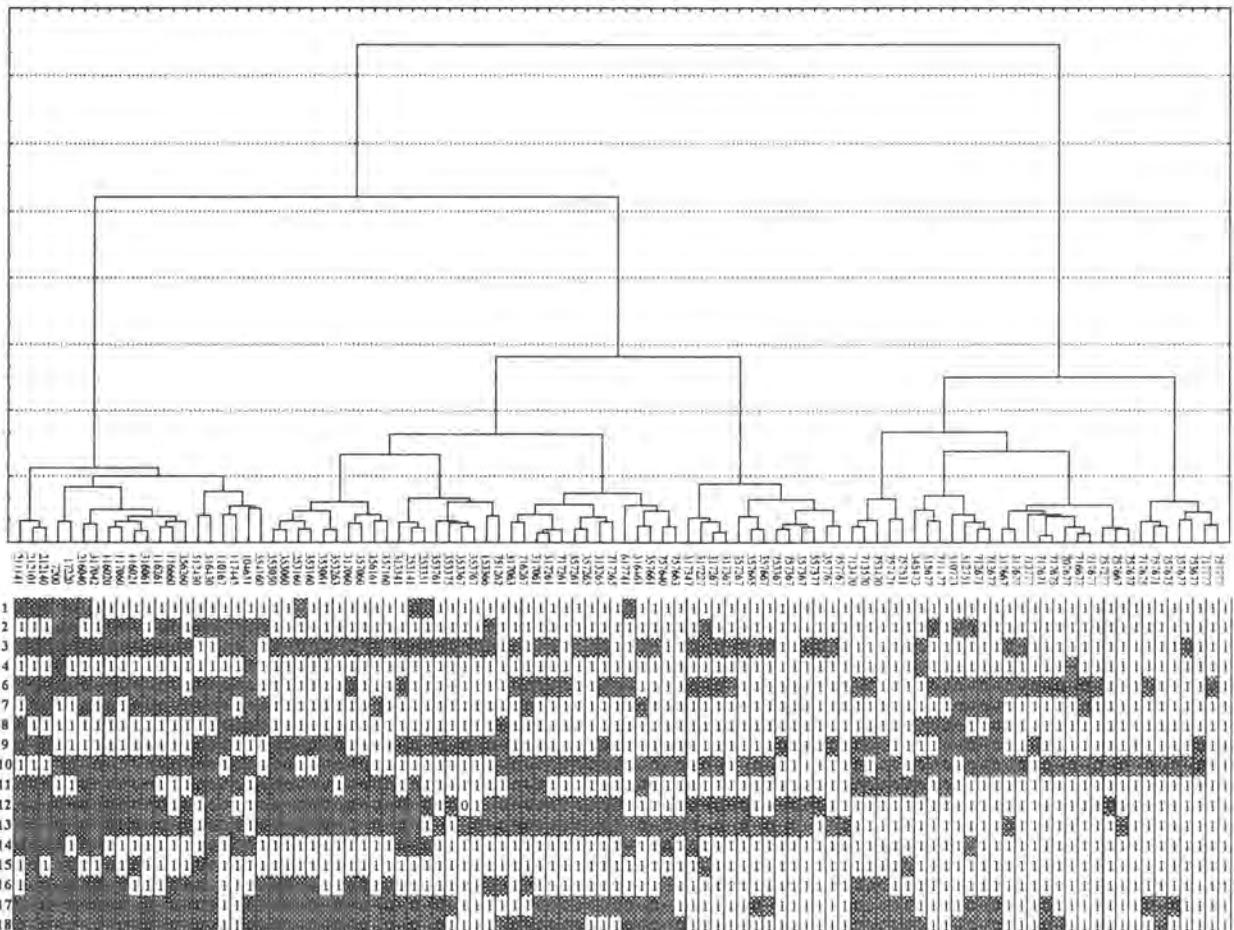


Abb. 1: Dendrogramm und Virulenzmuster für 96 Isolate der Zwergrostsammlung Aschersleben auf einem Testsortiment mit 18 Sorten (1 = anfällig, 0 = resistent)

durch eine numerische Taxonomie hinsichtlich ihrer verwandtschaftlichen Beziehungen untersucht, und es werden charakteristische Isolate zur Prüfung ausgewählt. In mehrjährigen Freilandversuchen wird die Ausprägung der quantitativen Resistenz durch Ermittlung von Befallsverläufen bestimmt.

*Evaluation of a collection of 500 samples of *Hordeum spontaneum* for resistance to *Puccinia hordei* and the resistant samples for resistance to *Erysiphe graminis*. The determination of the qualitative resistance is carried out as a seedling test in the greenhouse with defined pathogen isolates. The isolates of the pathogen bank of our Institute are screened for their relations by a numerical taxonomy and characteristic isolates are selected for the tests. The level of quantitative resistance will be evaluated as an adult plant test in the field for several years.*

Im Jahr 1995 erfolgte die zweite Feldprüfung der im Jahr 1994 selektierten Prüfmuster. Der Anbau der 225 Sippen wurde in vier Wiederholungen bei künstlicher Infektion mit einem Rassengemisch des Erregers *Puccinia hordei* durchgeführt, um die im Vorjahr gewonnenen Aussagen zu bestätigen.

Zur Beschreibung der qualitativen Resistenz im Sortiment wird auch ein Nachweis bereits überwindener Resistenzgene durchgeführt. Aus der Pathogenbank des Institutes wurden durch Charakterisierung der verwandtschaftlichen Beziehungen der Rostisolate mittels einer numerischen Taxonomie (Abb. 1) Rassen mit unterschiedlichen Virulenzmustern ausgewählt. Weitere Keimpflanzenprüfungen mit den definierten Rassen 'UN 16-1' und 'UN 34-3' wurden durchgeführt, um Teilresistenzen zu bestimmen.

Zusätzlich konnte im Freiland eine weitere Sippe selektiert werden, die im Keimpflanzentest anfällig reagierte, jedoch als adulte Pflanze resistent blieb, so daß eine Altersresistenz angenommen werden kann. Die anderen

im Jahre 1994 als altersresistent selektierten 10 Sippen zeigten einen leichten Endbefall von drei bis fünf Prozent Blattflächenbedeckung. Die Bewertung der horizontalen Resistenz gegen *P. hordei* und *Erysiphe graminis* erfolgte im Freiland durch die Ermittlung der Befallsverläufe durch die Verwendung der Fläche unter der befallenen Blattfläche (AUDPC).

Die Nachkommen aus den Kreuzungen (*Hordeum spontaneum* x anfälliger Standard) des Jahres 1994 wurden 1995 im Freiland angebaut und im Herbst mit der Prüfung der F<sub>2</sub>-Nachkommenschaften begonnen. Weiterhin wurden die im Keimpflanzentest als vollresistent ermittelten Sippen mit der Gerste „Cebada Capa“ (Rph7) gekreuzt, um den Nachweis „identisch/nicht identisch“ zu dem noch voll wirksamen Resistenzgen Rph 7 zu führen.

#### Abstract:

A collection of 500 samples of *Hordeum spontaneum* was evaluated on resistance to *Puccinia hordei* and the resistant samples on resistance to *Erysiphe graminis*. The determination of the qualitative resistance is carried out as a seedling test in the greenhouse with different defined pathogen isolates.

The isolates of the pathogen bank of the Institute are screened for their relations by a numerical taxonomy and characteristic isolates are selected for the tests.

The level of quantitative resistance will be evaluated as an adult plant test in the field for several years.

(BAZ-2326)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK Gatersleben

064

Institut für Obstzüchtung  
Institute for Fruit Breeding  
Dresden-Pillnitz

Aufgaben des Institutes für Obstzüchtung sind die Züchtung neuer Sorten bei Apfel, Kirsche einschließlich Kirschenunterlagen und Himbeere, die sich bei hoher Produktqualität durch eine verbesserte Resistenz gegen biotische Schaderreger und durch eine hohe Toleranz gegen abiotische Schadfaktoren auszeichnen, sowie die Erstellung von Basismaterial und Selektion aussichtsreicher Zuchtstämme bei Erdbeere mit hoher Produktqualität und verbesserter Resistenz gegen biotische und abiotische Schadfaktoren.

The tasks of the Institute of Fruit Breeding are breeding of new cultivars of apple, cherry including rootstocks, and raspberry with high product quality, improved resistance to pathogens and high tolerance to abiotic stressfactors as well as the development of basic material and selection of promising breeding strains of strawberry with high product quality and improved resistance to biotic and abiotic stressfactors.

## 1. Züchtung Breeding

### 1.1. Erstellung von resistentem Basismaterial bei Erdbeere mit Resistenz gegen *Phytophthora fragariae* Hickmann, *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet., *Verticillium dahliae* Kleb. sowie mit hoher Fruchtqualität Breeding of basic material of strawberry with resistance to *Phytophthora fragariae* Hickmann, *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet., *Verticillium dahliae* Kleb. as well as with high fruit quality Dathe, B.

*Phytophthora fragariae*, *Ph. cactorum* und *Verticillium* sp. sind bodenbürtige Schaderreger, die in der Erdbeerproduktion bedeutende Schäden mit hohen ökonomischen Verlusten verursachen. Ziel der Züchtungsforschung: Untersuchung der genetischen Ressourcen der Resistenzen gegen *Ph. fragariae*, *Ph. cactorum* und *Verticillium* sp. in Wildarten und Sorten; Entwicklung von Selektionsmethoden; Untersuchungen über die Vererbung der Resistenzen; Kombination von Resistenzgenen gegen das gleiche oder unterschiedliche Pathogene; Akkumulation von Resistenzgenen in Donor-Genotypen; Entwicklung von Basismaterial mit Resistenz gegen *Ph. fragariae*, *Ph. cactorum* und *Verticillium* sp. sowie mit hoher Fruchtqualität

*Phytophthora fragariae*, *Ph. cactorum* and *Verticillium* sp. are soilborne pathogens which cause important diseases with high economic losses in strawberry production. Aim of breeding research: exploration of genetic resources for resistances to *Ph. fragariae*, *Ph. cactorum* and *Verticillium* sp. in wild species and varieties; development of selection methods; studies on inheritance of resistances; combination of resistance genes in donor

genotypes; development of basic material with resistance to *Ph. fragariae*, *Ph. cactorum*, and *Verticillium* sp. and with a high fruit quality.

Es wurden 128 Sämlinge mit Resistenz gegen *Phytophthora fragariae* auf 15 Pflanzen je Sämling verklont und im August 1995 im Freiland ausgepflanzt. An diesem Material erfolgt z.Z. eine Wiederholung der Resistenztestung gegen *P. fragariae* (Einstellen der Ausläufer in Mischsuspension im Kühlschrank bei 14 °C und Auszählen der Oosporen in den Wurzeln mit Hilfe von Quetschpräparaten). Weiterhin wurden 40 der insgesamt 128 Klone im August 1995 einer *Verticillium*-Testung unter kontrollierten Bedingungen unterzogen. Die Ergebnisse dieser Versuche sind im Mai 1996 zu erwarten. Bei 51 Klonen dieser Serie mit Resistenz gegen *Ph. fragariae* wurde eine gute Fruchtqualität festgestellt. In einer Resistenztestung (1994/95) gegen *Verticillium* wurden insgesamt 600 Klone (je 3 Pflanzen/Klon) mit 15 Isolat (Gemisch) inokuliert. Nur drei der 600 Klone waren nicht befallen. In Zusammenarbeit mit Dr. Sandke wurden von 2845 Erdbeersämlingen Säure- und Zuckerwerte (pH, Refraktometerwert BRIX %) gemessen. Auf der Grundlage dieser Werte wurde ein Selektionsverfahren erarbeitet. Von 2845 Sämlingen wurden 68% der Sämlinge wegen zu geringer Geschmacksqualität verworfen. Weiterhin wurden alle Sämlinge mit Befall von *Botrytis*, Erdbeermehltau, *Verticillium*, Rot- und Weißfleckenkrankheit und 'June Yellows' ausgemerzt. Nach Negativselektion auf Krankheitsbefall durch o.g. Schaderreger verblieben im Zuchtmaterial 557 Sämlinge, die mit drei Pflanzen /Klon zur weiteren Testung ausgepflanzt wurden. Von Sämlingen aus Kreuzungen remontierender Sorten wurden 37 Sämlinge (3 Pflanzen/Klon) selektiert.

#### Abstract:

Results of screening tests for Red Stele Root Rot (*Phytophthora fragariae*) resistance are 128 selections

with probably resistance. Selections are now tested in a second test for *Ph. fragariae* resistance in 1995/96. A mixture of 5 isolates of the pathogen were used as inoculum. Criterion for resistance is the number of oospores in infected roots. These selections have been planted to assess their fruit quality and commercial value in 1995.

(BAZ-4103)

In Zusammenarbeit mit: Gebhart, LfL, Dresden-Pillnitz; Büttner, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Menzinger, FH Osnabrück; Faby, Soosten, LWK Weser-Ems; Spiegler, Häberli, Obst- und Beerenzentrum, Schweiz; Wildenhain, Bundessortenamt

065

### 1.2. Erstellung von Basismaterial bei Himbeere mit Resistenz gegen *Phytophthora fragariae* var. *rubi* und hoher Fruchtqualität

**Production of basic material of raspberry with resistance to *Phytophthora fragariae* var. *rubi* and with high fruit quality**

Dathe, B.

*Untersuchung der genetischen Ressourcen der Resistenz gegen Phytophthora fragariae var. rubi in Wildarten und Sorten. Entwicklung von Selektionsmethoden in Sämlingsnachkommenschaften. Kombination von Resistenzgenen gegen Ph. fragariae var. rubi und gegen durch Blattläuse übertragene Viren. Entwicklung von Basismaterial mit Resistenz gegen Ph. fragariae var. rubi und Blattlausresistenz sowie hohe Fruchtqualität.*

*Investigation of genetic resources for resistance to Phytophthora fragariae var. rubi in wild species and varieties. Development of selection methods in seedling progenies. Combination of resistance genes to Ph. fragariae var. rubi and genes against viruses transmitted by aphids. Development of basic material with resistance to Ph. fragariae var. rubi and aphids as well as high fruit quality.*

Folgende Arbeiten wurden im Jahre 1995 durchgeführt:

1. Aufbau eines Sortimentes; Bestand: 30 Sorten; Ziel: Evaluierung von Ausgangsmaterial für Kreuzungen.  
2. Kombinationszüchtung: Es wurden Sorten mit Resistenz gegen *Phytophthora fragariae* var. *rubi* mit blattlausresistenten Sorten gekreuzt. Bestand im Freiland: 720 Sämlinge, weitere Sämlinge zur Anzucht im Gewächshaus. Ziel der 1. Selektion: hohe Fruchtqualität. Nur Sämlinge mit hoher Fruchtqualität werden auf Resistenz getestet, da hiermit eine größere Effektivität der Selektion erreicht wird. Im Jahre 1995 wurde der natürliche Befall durch blattsaugende Insekten im Himbeersortiment bonitiert (kein Einsatz von Insektiziden). Von den 30 Sorten erwiesen sich 'Malling Leo', 'Bulgarski Rubin', 'Zeva 2' und 'Marwe' als extrem stark befallen. Kein Befall durch blattsaugende Insekten wurde hingegen bei den Sorten 'Chilliwick' und 'Rutrago' - einer blattlausresistenten Sorte - registriert.

Abstract:

Breeding work in 1995: Crossing of varieties were made with resistance to *Phytophthora fragariae* var. *rubi* and with resistance to raspberry aphids (720 seedlings). Aim of the first selection in seedlings is a high fruit quality and in the next steps the resistance screenings to *Phytophthora fragariae* var. *rubi* and to aphids.

(BAZ-4104)

In Zusammenarbeit mit: Gebhart, LfL, Dresden-Pillnitz; Büttner, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Menzinger, Fachhochschule Osnabrück; Faby, Soosten, LWK Weser-Ems; Spiegler, Häberli, Obst- und Beerenzentrum, Schweiz; Wildenhain, Bundessortenamt

066

### 1.3. Entwicklung von Apfelsorten mit hoher Resistenz gegen *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* und *Panonychus ulmi* in Kombination mit hoher Produktqualität

**Development of apple varieties with high resistance to *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Erwinia amylovora*, *Pseudomonas syringae* and *Panonychus ulmi* combined with high product quality**

Fischer, C.

*Das langjährige Resistenzzüchtungsprogramm in Pillnitz beinhaltet die Züchtung neuer Apfelsorten mit hoher Resistenz gegen biotische und abiotische Schadfaktoren, hoher Fruchtqualität, stabilen, hohen Erträgen. Bei den ökonomisch wichtigsten Krankheiten Schorf, Mehltau, Feuerbrand wird auf Ein- und Mehrfachresistenz selektiert. Neun neue Sorten befinden sich in Sortenschutzprüfungen. Ziele: Züchtung von Apfelsorten mit stabiler Mehrfachresistenz; Kopplung verschiedener Resistenzen mit hoher Fruchtqualität; Herstellung neuer multipel resistenter Donoren; Prüfung der Stabilität und Vererbung der Resistenzmethode: Kombinationszüchtung; Frühselektion; Generationsbeschleunigung; Resistenz- und Wertprüfungen; Kryokonservierung; Resistenzmarker.*

*In long-term res.-breeding progr. in Pillnitz properties are combined: good fruit quality, regular high yield, resistance to the economically important diseases scab, mildew, fireblight. From apple breeding progr., new multiple resistant cultivars have been selected. Aims: Breeding new cultivars with stable multiple resistance, high fruit quality and yield; development of mult. resistant donors; resistance screenings of stability and heritability. Meth.: Combination breeding; early selection; acceleration generations; cryoconservation; resistance evaluation; screening with molecular markers.*

Entsprechend der Zielstellung zur Züchtung neuer Apfelsorten mit dauerhafter Mehrfachresistenz und hoher Fruchtqualität wurden 1995 97 Kreuzungsnachkommen hergestellt. Kombiniert wurden qualitativ hochwertige Apfelsorten aus der Pillnitzer Züchtung und ausländischer Herkunft sowie mehrfachresistente Sorten

Tab. 1: Obstbauliche Werteigenschaften von Re-Sorten® im 13jährigen Feldversuch, Mittel der Jahre 1983...1995, Standort Dresden-Pillnitz

| Sorte            | Resistenzgrad    |                  |                  | Reifezeit   |            | Ertrag     |   |                  | Frucht           |              |                                |
|------------------|------------------|------------------|------------------|-------------|------------|------------|---|------------------|------------------|--------------|--------------------------------|
|                  | Schorf           | Mehltau          | Feuerbrand       | Pflückreife | Genußreife | kg/B zu GD | % | spez. KV % zu GD | Größe            | Farbe        | Geschmack                      |
| Golden Delicious | (stark anfällig) | (stark anfällig) | (stark anfällig) | A 10        | 11...3     | 100 (hoch) |   | 100 (hoch)       | groß             | gelb         | gut, süß, aromatisch           |
| Prima            | hoch             | mittel           | gering           | M 9         | 9...11     | 112        |   | 108              | groß             | grün-rot     | mittel, fade-süßlich           |
| Retina           | hoch             | mittel           | hoch             | E 8/A 9     | 8...10     | 76         |   | 93               | groß             | grün-rot     | gut, süß-säuerlich aromatisch  |
| Releika          | hoch             | mittel           | mittel           | M 9         | 9...12     | 108        |   | 164              | klein            | gelb-rot     | gut, kräftig süß, aromatisch   |
| Resi             | hoch             | hoch             | mittel           | E 9         | 10...2     | 112        |   | 107              | mittel bis klein | rot          | gut, kräftig süß, aromatisch   |
| Reanda           | hoch             | mittel           | sehr hoch        | E 9/A 10    | 10...3     | 94         |   | 95               | groß             | gelb-rot     | gut, süß-säuerlich, aromatisch |
| Renora           | hoch             | mittel           | gering           | A 10        | 12...4     | 98         |   | 90               | mittel bis groß  | gelb-rötlich | gut, säuerlich-süß             |

(Anmerkungen: A - Anfang; M - Mitte; E - Ende; KV - Kronenvolumen)

(Pillnitzer Re-Sorten® und Zuchtstämme, ausländische Sorten). Kreuzungskombinationen erfolgten mit verschiedenen Resistenzquellen gegen Schorf (Kopplungen von Vf, Vr, Vm und VA als Mehrfachkreuzungen), gegen Mehltau (Pl 1 Pl 2, polygen), gegen Feuerbrand (polygen) und gegen Obstbauspinnmilbe. Aus der Aussaat von 39 Kreuzungsnachkommenschaften (4219 Sämlinge) mit der Kombination von Resistenzen gegen Schorf, Mehltau, Feuerbrand und Spinnmilbe wurden nach Frühselektion gegenüber Schorf 38 % schorffresistente Sämlinge selektiert. Für die Weiterentwicklung neuen Ausgangsmaterials mit Schorf- und Mehltauresistenz sowie hoher Fruchtqualität wurden 13 Kreuzungsnachkommenschaften mit 1246 Sämlingen in den Selektionsprozeß im Feldbestand eingegliedert. Mit den gleichen Zielstellungen wurden weitere Artkreuzungen durchgeführt (12 Populationen mit 547 Sämlingen), um bisher nicht genutzte Resistenzquellen für die Erhöhung der Stabilität der Resistenzen zu prüfen. In Untersuchungen zur Feuerbrandresistenz konnten weitere neun neue Zuchtstämme mit einem hohen Resistenzgrad ausgelesen werden, die gleichzeitig schorf- und mehltauresistent sind. Die Resistenzprüfungen gegenüber Spinnmilben ergaben drei Zuchtstämme mit guter Verträglichkeit gegenüber Spinnmilben, die ebenso schorf- und mehltauresistent sind. Die Resistenzprüfungen im Feldversuch und im Gewächshaus besonders auf Stabilität der Resistenzen ergaben sowohl für die im Aufbau als auch in Wertprüfungen befindlichen Pillnitzer Re-Sorten® und Zuchtstämme dauerhafte Resistenz. Es wurden keinerlei Anzeichen für ein Durchbrechen der Resistenz und damit keine Abweichungen von den bisherigen langjährigen Ergebnissen festgestellt. Nach 13 Versuchsjahren einer obstbaulichen Wertprüfung mit den Re-Sorten® 'Retina', 'Releika', 'Resi', 'Reanda' und 'Renora' sowie den Ver-

gleichsorten 'Golden Delicious' und 'Prima' erwiesen sich die hohen obstbaulichen Werteigenschaften (Tab. 1) der Re-Sorten® als sehr beständig. Nach der bereits erfolgten Freigabe der Re-Sorten® 'Retina' und 'Reanda' wurde inzwischen 'Releika', ausgeschrieben. Zwei Re-Sorten® aus diesem Versuch wurden in ein Förderprojekt des Freistaates Sachsen aufgenommen, um die Einführung resistenter Apfelsorten für den umweltgerechten Anbau und in den Markt zu begleiten. 1995 wurden aus der Zuchtichtung der Pillnitzer 'Pi'-Sorten mit hoher Fruchtqualität und Staffelung der Reifezeit von Frühjahr- bis Spätwinterreife zwei Sorten zum Sortenschutz angemeldet und die vier Sorten 'Pia', 'Pirella' ('Pirol'), 'Piflora' und 'Pingo' zur Lizenzvergabe ausgeschrieben. Die in die obstbaulichen Wertprüfungen aufgenommenen Zuchtstämme sind frei von den gegenwärtig bekannten und getesteten Virose- und Mykoplasmosen (Testung erfolgt in der LfL).

#### Abstract:

In the resistance breeding programme in Pillnitz properties are combined: good fruit quality, regular high yield, multiple resistance against scab, mildew, fire blight, red spider mite, and bacterial canker. In 1995 12 new clones were selected with resistance to scab, mildew, fire blight, and red spider mite. The Pillnitz Re-cultivars ® and selected resistant clones were screened for the durability of resistances. All the resistance characteristics are stable in the field tests. Four new licensed 'Pi'-cultivars with high fruit quality and regular high yield in different ripening periods were given in the production.

(BAZ-1401)

In Zusammenarbeit mit: Richter, Habekuß, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Rapp, BAZ, Inst. f. Rebenzüchtung, Siebeldingen; Fischer, Büttner,

IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Wackwitz, Wilcke, Gebhart, Wiedemann, LfL, Dresden-Pillnitz; Zeller, BBA, Darmstadt; Lespinasse, INRA, Angers, Frankreich; Kellerhals, EFA, Wädenswil, Schweiz; Aldwinkle, Brown, Cornell Univ., Geneva, USA.

067

#### 1.4. Entwicklung ertragreicher Sauerkirschensorten mit hoher Produktqualität und Resistenz gegen das Nekrotische Ringfleckenvirus der Kirsche sowie Spätfrosttoleranz

**Development of productive sour cherry cultivars with high fruit quality and resistance to Necrotic Ringspot-virus of cherry and tolerance to spring frost**

Wolfram, B.

*Gute Fruchtqualität (Frischverzehr), Verarbeitungseignung und Diversifikation. Selbstfertile Sorten mit unterschiedlichen Reifezeiten, Resistenz gegenüber dem Nekrotischen Ringfleckenvirus sowie gegen Spätfrost. Selektion der Sämlinge und Klone, Prüfung der Verarbeitungseignung. Befruchtungsbioologische Untersuchungen, Virustestungen, obstbauliche Prüfung.*

*High fruit quality (fresh market) and suitability for processing and diversification. Selffertile cultivars and different times for ripening. Resistance to Necrotic Ringspot Virus and spring frost. Selection of the seedlings and hybrids, test of the fruits for processing. Tests of the fertilization. Investigation of the virus status. Trials with dwarfing fruit trees in orchards.*

Während die Merkmale „Fruchtqualität“ und „Resistenz“ (Nekrotisches Ringfleckenvirus der Kirsche, *Monilia*) in

den Neuzüchtungen (z.B. 'Karneol') im Vergleich zur Schattenmorelle durch Kreuzung und Selektion verbessert werden konnten, ist das Merkmal „Ertrag“ - unter Berücksichtigung aller anderen erwünschten Eigenschaften - züchterisch schwerer zu erfassen und zu beeinflussen. Die unterschiedliche Ausprägung dieses Merkmals in den Elternsorten, ebenso seine Vererbung sowie Spaltungsverhältnisse in den Nachkommen sind selten vorhersehbar und bisher ungeklärt. Die Ursachen dafür sind offenbar in der Entstehung bzw. Evolution der Sauerkirsche zu suchen. Bei der Selektion auf hohen und stabilen Ertrag wird das Zusammenwirken wichtiger Ertragskomponenten, wie z. B. Blühstärke (Anzahl der Infloreszenzen, Sitz der Infloreszenzen bzw. Blüten am ein- oder mehrjährigen Holz, Spürtyp), Blütenfrostempfindlichkeit, Pollenspender, Selbstfertilität, Fruchtungstendenz u.a. berücksichtigt. Da letztendlich zunächst auf hohen Ertrag selektiert wird, bleibt immer die Frage offen, was zum Ertrag geführt hat: Selbst- oder/und Fremdbefruchtung. Zuchtziel ist uneingeschränkt Selbstfertilität und hoher Ertrag. Davon ausgehend wurden an 50 Sämlingen bzw. Klone, die hinsichtlich mehrerer Merkmale aus einem Bestand von 4000 Sämlingen eine positive Beurteilung erhielten, neben der Fruchtbehangsbonitur der Fruchtansatz nach Selbstung und der Fruchtansatz nach freier Abblüte, bei einer Anzahl von jeweils ca. 200 Blüten prozentual erfaßt. Im Ergebnis 4- bis 5jähriger Untersuchungen konnten 8 Klone herausgefunden werden (vgl. Tabelle 1), die bisher hinsichtlich der genannten Merkmale im Vergleich zur Schattenmorelle als selbstfertil und ertragssicher eingeschätzt werden können. Diese 8 Klone unterschieden sich von den anderen geprüften Klone weniger durch ihre hohen Fruchtansatz- und Behangboniturwerte als durch ihre geringeren Jah-

Tab. 1: Ergebnisse mehrerer Jahre zum Fruchtansatz in % nach Selbstung (S) sowie freier Abblüte (fA) und Fruchtbehangbonitur (Bb)<sup>x</sup> von selektierten Sauerkirschensorten im Vergleich zur 'Schattenmorelle'

|                                      | 1989 |    |     | 1992 |      |    | 1993 |    |    | 1994 |    |    | 1995 |    |    | X  |    |     |
|--------------------------------------|------|----|-----|------|------|----|------|----|----|------|----|----|------|----|----|----|----|-----|
|                                      | S    | fA | Bb  | S    | fA   | Bb | S    | fA | Bb | S    | fA | Bb | S    | fA | Bb | S  | fA | Bb  |
| 'Schattenmorelle'                    | 39   | 35 | 8,5 | 25   | 40   | 8  | 42   | 36 | 6  | 24   | 16 | 7  | 11   | 13 | 7  | 28 | 28 | 7,3 |
| 2.32                                 | 33   | 25 | 9   | 36   | 21   | 8  | -    | -  | -  | 40   | 34 | 6  | 26   | 23 | 7  | 34 | 26 | 7,5 |
| 'Röhrls Weichsel'<br>fr.abgbl.       |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 3.33                                 | 26   | 27 | 9   | 25   | 17   | 8  | -    | -  | -  | 35   | 34 | 6  | 28   | 26 | 8  | 29 | 26 | 7,8 |
| 'North Star'<br>fr.abgbl.            |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 5.55                                 | -    | -  | -   | 38   | 21   | 6  | 24   | 26 | 7  | (24) | 33 | 6  | 8    | 7  | 3  | 24 | 22 | 5,5 |
| 'Koröser' x 2.40                     |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 12.100                               | -    | -  | -   | 29   | 28   | 9  | 32   | 54 | 5  | 24   | 49 | 6  | 24   | 41 | 7  | 27 | 43 | 6,8 |
| 'Koröser' x 43.87                    |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 13.122                               | -    | -  | -   | 25   | (20) | 8  | 12   | 20 | 5  | 14   | 29 | 5  | 17   | 58 | 7  | 17 | 32 | 6,3 |
| 'Kelleris 16' x 17.5                 |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 3.79                                 | -    | -  | -   | 23   | 22   | 8  | 61   | 64 | 5  | 30   | 17 | 3  | 3    | 18 | 5  | 29 | 30 | 5,3 |
| 'Korund' x 43.87                     |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 23.119                               | -    | -  | -   | 24   | 43   | 6  | 12   | 15 | 4  | 15   | 21 | 7  | 20   | 28 | 5  | 18 | 27 | 5,5 |
| 'Kelleris 16' x<br>'Leopoldskirsche' |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |
| 18.56                                | 29   | 32 | 9   | 40   | 53   | 8  | -    | -  | -  | 17   | 31 | 6  | 29   | 41 | 8  | 29 | 39 | 7,8 |
| 'Schattenmorelle' x<br>'Leitzkauer'  |      |    |     |      |      |    |      |    |    |      |    |    |      |    |    |    |    |     |

X Boniturwerte 1...9 (9 = bester Wert)

resschwankungen. Eine korrelative Beziehung zwischen diesen drei Merkmalen besteht nur im Trend. Bei Sauerkirschen benötigen Aussagen zum Ertrag auch mehrjährige Angaben zum Fruchtansatz nach Selbstung und freier Abblüte. Trifft der Fall zu, daß die Selbstfertilität hoch ist und der Behang den Erwartungen nicht entspricht, können Blütenfrostschäden die Ursache sein. Es ist vorgesehen, einige der selektierten Klone hinsichtlich ihrer Eignung als Konservenfrucht zu prüfen. Dazu werden Früchte bevorzugt, die nicht zu groß aber festfleischig sind und einen kleinen Stein besitzen, der sich gut vom Fruchtfleisch löst. Die Brix-Werte (lösl. Trockensubstanz) sollten hoch sein.

**Abstract:**

Very important aims in the sour cherry breeding are high yield and selffertility. 50 hybrids were investigated concerning the characteristics yield (with scale values 1...9, 9 the best value), fruit set (%) after selfing and after open pollination. From 50 hybrids (selected from 4000 seedlings) only 8 had a similar yield like 'Schattenmorelle'.

Tab. 1: ...

The results are to see in the table.  
(BAZ-4102)

In Zusammenarbeit mit: Wiedemann, LfL, Dresden; Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Iezzoni, East Lansing, Michigan, USA 068

**1.5. Entwicklung von wuchsreduzierenden Unterlagen für Kirschen mit Resistenz gegen *Cytospora spec.* (Valsa-Krankheit) und Toleranz gegen Holzrost**

**Development of dwarfing cherry rootstocks with resistance to Valsa (*Cytospora* sp.) and tolerance to frost**

Wolfram, B.

*Schwachwuchs induzierende Kirschenunterlagen, die mit Sorten gutverträglich sind, frühzeitig mit dem Ertrag einsetzen und eine ausreichende Fruchtqualität besitzen. Resistenz gegen *Cytospora spec.* und Winterfrost. Prüfung und Selektion der Kreuzungsnachkommen auf Ver-*

| Unterlage       | Unterlagenvergleich mit der Sorte 'Van'           |   |            |              |                                  |      |
|-----------------|---|---|------------|--------------|----------------------------------|------|
|                 | Boniturwerte*<br>Blühstärke<br>(kum.,1992...1995) | Boniturwerte*<br>Fruchtbehang<br>(kum.,1992...1995) | 1995       |              | Stammdurchmesser (cm)<br>1994*** |      |
|                 |   |   | o. Schnitt | m. Schnitt** |                                  |      |
| Pi-KU 4,13      | 39,0  | 21,9  | 6,4        | 7,8          | 9,0                              | 12,3 |
| Pi-KU 4,20      | 47,1  | 22,6  | 6,9        | 8,3          | 7,4                              | 9,6  |
| Pi-KU 4,22      | 39,2  | 20,9  | 6,8        | 8,5          | 10,8                             | 12,9 |
| Pi-KU 4,83      | 41,7  | 24,2  | 7,1        | 7,6          | 9,3                              | 12,8 |
| 'Gisela 5'      | 45,8  | 23,3  | 6,3        | 7,5          | 7,3                              | 10,5 |
| <i>P. avium</i> | 40,9  | 22,5  | 7,2        | 7,8          | 12,8                             | 12,8 |

\* Boniturwerte 1...9 (9 bestes Ergebnis)

\*\* Schnitt erfolgte 1994 im Spätwinter

\*\*\* Stammdurchmesser wurde unterhalb und oberhalb der Veredlungsstelle gemessen

| Unterlage       | Unterlagenvergleich mit der Sorte 'Burlat'      |   |            |              |                                  |      |
|-----------------|---|---|------------|--------------|----------------------------------|------|
|                 | Boniturwerte<br>Blühstärke<br>(kum.,1990...95)* | Boniturwerte<br>Fruchtbehang<br>(kum.,1992...95)* | 1995       |              | Stammdurchmesser (cm)<br>1994*** |      |
|                 |   |   | o. Schnitt | m. Schnitt** |                                  |      |
| Pi-KU 4,13      | 27,2  | 12,2  | 6,2        |              | 10,2                             | 16,1 |
| Pi-KU 4,20      | 30,4  | 17,5  | 6,1        |              | 8,5                              | 11,6 |
| Pi-KU 4,22      | 26,7  | 11,6  | 6,3        |              | 10,7                             | 15,4 |
| 'Gisela 5'      | 37,5  | 16,8  | 5,7        |              | 7,6                              | 11,4 |
| <i>P. avium</i> | 29,1  | 13,0  | 6,2        |              | 11,1                             | 12,7 |

\* Boniturwerte 1...9 (9 bestes Ergebnis)

\*\*\* Stammdurchmesser wurde unterhalb und oberhalb der Veredlungsstelle gemessen

mehrbarekeit durch Grünstecklinge und auf Verträglichkeit mit Sorten in der Baumschule. Resistenzprüfungen (künstliche Infektion im Gewächshaus). Obstbauliche Prüfung.

*Dwarfing cherry rootstocks with a high affinity to cultivars, precocity of yield and a good fruit quality (fruit size). Resistance to Cytospora spec. and winter frost. Examination and evaluation of the seedlings (hybrids) to propagation and affinity with cultivars. Investigation of the resistance (artificial infection in greenhouse). Trials with dwarfing fruit trees in orchards.*

Aufgrund der dringenden Notwendigkeit, den Wuchs der Süßkirschen zu reduzieren, um die Kosten für Ernte und Ertragsbeginn zu senken, sind in den letzten 10...15 Jahren weltweit etwa 20 neue Unterlagen für Süßkirschen aus Züchtungs- bzw. Selektionsarbeiten hervorgegangen. Diese befinden sich z. Z. noch an verschiedenen Standorten mit verschiedenen Sorten in Prüfung. Auch aus den Pillnitzer Züchtungsarbeiten gingen neue Kirschenunterlagen (Pi-KU) hervor. Bisher waren vorliegende Ergebnisse wenig aussagekräftig, da ein Vergleich mit anderen Unterlagen fehlte. Erst in den letzten 2...3 Jahren wurden Pillnitzer Kirschenunterlagen in neue Prüfungen an verschiedenen Standorten in den Bundesunterlagenvergleich einbezogen. Ein 1988 angelegter Versuch in Pillnitz, in dem die Sorten 'Gisela 1', '5' und '10', *P. avium* und die Unterlagen 'Pi-KU 4,20', '4,13', '4,22' und '4,83' aufgepflanzt wurden, läßt erste Vergleiche zu (s. Tabellen). Da die 'Gisela'-Unterlagen '1' und '10' eine beträchtliche Anzahl Baumauffälle aufwiesen, wurden die Pi-KU nur mit 'Gisela 5' verglichen. Danach zeigt sich, daß am Standort Pillnitz 'Gisela 5' und 'Pi-KU 4,20' hinsichtlich Wuchsstärke und generativer Merkmale wie Blühstärke, Fruchtbehang und Fruchtgröße keine großen Unterschiede aufweisen. In Abhängigkeit von der Sorte können Wuchsunterschiede auftreten. Sorten auf 'Gisela 5' neigen ohne Schnitt noch schneller zu overcropping als auf 'Pi-KU 4,20'. Wie aus den Tabellen ersichtlich, wachsen die übrigen Unterlagen mit den Prüfsorten 'Van' und 'Burlat' etwas stärker als auf 'Pi-KU 4,20', aber etwas schwächer als auf *P. avium*. Die Unterlagen 'Pi-KU 4,20', 'Pi-KU 4,83' sowie 'Gisela 5' zeigten auch hinsichtlich *Cytospora spec.* und Winterfrost positive Ergebnisse.

Abstract:

In an orchard trial planted in Pillnitz in 1988, the new cherry rootstocks from Pillnitz (Pi-KU) were compared with 'Gisela 5'. The results suggest that 'Gisela 5' and 'Pi-KU 4,20' had a similar effect concerning growth and yield on the varieties 'Van' and 'Burlat'. 'Pi-KU 4,13' and '4,83' grew some vigorous with these varieties but not so vigorous like 'Pi-KU 4,22' and *P. avium*.

(BAZ-4108)

In Zusammenarbeit mit: Mittelstädt, Univ. Potsdam; Wiedemann, Handschack, LfL, Dresden; IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz.

069

#### 1.6. Entwicklung von ertragreichen Süßkirschensorten mit hoher Produktqualität und Resistenz gegen Krankheiten (*Cytospora spec.*, *Pseudomonas syringae*)

**Development of productive sweet cherry cultivars with high fruit quality and resistance to diseases (*Cytospora spec.*, *Pseudomonas syringae*)**  
Wolfram, B.; Schreiber, H.

*Ziel: Hohe Fruchtqualität (Geschmack, Fruchtgröße, -farbe, -festigkeit und geringe Platzempfindlichkeit) und Selbstfertilität. Resistenz gegen Cytospora spec. sowie Pseudomonas syringae. Identifizierung der S-Allele. Entwicklung und Anwendung molekularer Marker. Methode: Selektion der Sämlinge und Klone, Kreuzbestäubungen für Inkompatibilitätsuntersuchungen, Nachkommenschaftsanalysen. Cytospora- und Pseudomonas-Resistenzprüfungen.*

*Aim: high fruit quality (fruit size, firmness, colour, low susceptibility to cracking) and selffertility. Identification of S-alleles. Development and application of molecular markers. Resistance to Cytospora spec. and Pseudomonas syringae. Method: selection of the seedlings and hybrids. Crossings for investigations of incompatibility. Analysis of progenies. Investigations of Cytospora spec. and Pseudomonas syringae.*

Aus dem Naumburger Züchtungsprogramm, das ab 1971 in Pillnitz/Kauscha fortgesetzt wurde, werden bisher vor allem folgende 12 Sorten an vielen Standorten des In- und Auslandes auf ihre Standorteignung und ihren Marktwert geprüft: 'Nafrina' (Na 1), 'Nalina' (Na 4), 'Naresa' (Na 1032), 'Naprumi' (Na 478), 'Nanni' (Na 10), 'Nabigos' (Na 620), 'Nadino' (Na 36), 'Namosa' (Na 24), 'Namare' (Na 720), 'Naremi' (Na 18), 'Namada' (Na 435) und 'Namati' (Na 236). Diese Sorten umfassen alle Reifezeiten, wobei die frühen Sorten, wie 'Nalina', 'Naprumi', 'Naresa', und die spät reifende 'Namati' besonders von Interesse sind. Da die Süßkirsche nicht nur selbststeril ist, sondern die Sorten auch noch verschiedenen Intersterilitätsgruppen (Gruppen mit gleichen S-Allelen) angehören, die sich untereinander nicht befruchten, ist die Kenntnis der geeigneten Befruchter erforderlich. Diesbezüglich wurden seit Jahren befruchtungsbiologische Untersuchungen durchgeführt, indem die im Anbau befindlichen Sorten unter Einbeziehung vieler anderer Klone als Pollenspender getestet wurden. So sind inzwischen für alle Pillnitzer Neuzüchtungen Befruchtersorten bekannt. Für die Weiterführung der Züchtungsarbeiten im Sinne des Zuchtziels ist es jedoch notwendig, mittels Kreuzbestäubungen eines Testersortiments die S-Allele der Neuzüchtungen zu erfassen. Die Schwierigkeit besteht international darin, daß die S-Allele der Testersorten infolge von Sortenverwechslungen nicht exakt festliegen. Als Folge davon wird die Zuordnung der geprüften Sorten erschwert bzw. falsch vorgenommen. Aufgrund vorliegender befruchtungsbiologischer Untersuchungen, der Kreuzbestäubung mit Testsorten und dem Erfahrungsaustausch mit H. Schmidt, Ahrensburg, und B. Andersen, Cornell Uni-

versität, Geneva, USA, konnten erste Pillnitzer Sorten wie folgt eingruppiert werden: Gruppe S4 S5: 'Burlat', 'Durone de Vignola II', 'Nalina', 'Naprumi' und 'Nabigos' (unter Vorbehalt 'Naresa') Gruppe S3 S4: 'Altenburger Melonenkirsche', 'Büttners', 'Ulster' (ist nicht S2 S4 wie bisher angenommen), 'Namosa' und 'Namare', Gruppe ??: 'Hedelfinger' (nicht S4 S5 und nicht Gruppe 0), 'Große Schwarze Knorpel', 'Farnstädter Schwarze', 'Nadino'. Bei der Auswertung der Kreuzbestäubung galt ein Fruchtansatz bis 10 % (bei Vorliegen mehrerer Werte) als nicht befruchtet. Reziproke Unterschiede im Fruchtansatz können auftreten. Sie erschweren die Einordnung. In diesem Zusammenhang ist zu erwähnen, daß in witterungsbedingt günstigen Jahren auch besonders ertragreiche selbststerile Sorten einen Fruchtansatz nach Selbstung bis zu 15 % aufweisen können. In den nächsten Jahren sollen auch für die übrigen Neuzüchtungen die S- Allele bestimmt werden.

#### Abstract:

12 new sweet cherry varieties from Pillnitz/Kauscha were for your S-Allele group by cross pollination. Only for 6 varieties could be found a group: S4 S5 group: 'Burlat', 'Naprumi', 'Nalina', 'Nabigos' and perhaps 'Naresa', S3 S4 group: 'Altenburger Melonenkirsche', 'Büttners', 'Ulster' (not S2 S4), 'Namosa', 'Namare'. ?? group: 'Hedelfinger', 'Nadino', 'Große Schwarze Knorpel'. (BAZ-4121)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Schmidt, Inst. f. Zierpflanzenzüchtung, Ahrensburg; Andersen, Cornell Univ., Geneva, USA  
070

## 2. Biotechnologie Biotechnology

### 2.1. Entwicklung von Methoden zur Etablierung von Protoplastenkulturen bei verschiedenen *Prunus*-Arten und -Genotypen

#### Protoplast culture of different *Prunus* species and genotypes

Hanke, V.

*Protoplasten stellen ein vielseitig verwendbares In-vitro-System zur Bereitstellung von genetisch neuartigem züchterischem Ausgangsmaterial dar. Ziel der Untersuchungen ist die Erarbeitung von Methoden der Isolation und Kultivierung von Protoplasten aus pflanzlichen Geweben und der Induktion regenerativer Prozesse in teilungsfähigen Protoplastenkulturen bei Prunus. Verwendet werden als Spendermaterial züchterisch relevante Süß- und Sauerkirschenarten, sowie Kirschenunterlagen.*

*Protoplast cultures are a suitable in-vitro-system for the production of genetically new breeding material. The investigations are concentrated on the development of methods for the isolation and cultivation of protoplasts from plant tissue and for the induction of the regenerati-*

*on process in dividing protoplast cultures in Prunus. As donor material sweet and sour cherry varieties and rootstocks of breeding importance are used.*

Im Berichtsjahr wurden die Untersuchungen zur Isolierung von Protoplasten aus Mesophyllgewebe von Süßkirschenarten und Kirschenunterlagen fortgesetzt. Das in die Untersuchungen einbezogene Genotypenspektrum wurde erweitert, wobei die Unterlage 'F12/1' eine gute Tauglichkeit zur Protoplastierung zeigte. Gleichmaßen wurden Isolierungen an Genotypen, die an Kolyedonen verschiedener Kreuzungspopulationen im Jahre 1994 induziert worden waren und verschiedenen Ploidiegraden zuzuordnen sind, durchgeführt. Eine entscheidende Verbesserung in der Vitalität und Teilungsbereitschaft der Protoplasten erbrachte die Verwendung von Seewasser bei der Isolation. Der Erhalt der Teilungsfähigkeit in Flüssigkultur oder bei Plattierung in Na-Alginat über einen längeren Zeitraum ist derzeit noch mit großen Schwierigkeiten verbunden, wobei die Ursachen für das Absterben der Mikrokalluse vielfältig sind, so daß es weiterer methodischer Verbesserungen, insbesondere bezüglich der Vorkultur der Spenderpflanzen und bezüglich der physikalischen Bedingungen bei der Kultivierung der Protoplasten, bedarf.

#### Abstract:

The investigations on the isolation of protoplasts from mesophyll tissue of sweet cherry cultivars and cherry rootstocks were continued. The number of genotypes involved in the experiments was increased, the rootstock 'F12/1' showed a good ability to release protoplasts. Isolations were also carried out on genotypes regenerated from cotyledons of different crossings in 1994 with different ploidy level. A pronounced increase of the viability and the ability to divide was obtained by the use of seawater for isolation. The maintenance of dividing protoplasts is complicated, a further improvement of the methodology is needed.

(BAZ-4112)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz

071

### 2.2. Entwicklung von Methoden zur Etablierung von Protoplastenkulturen bei verschiedenen *Malus*-Arten und -Genotypen

#### Protoplast cultures of different *Malus* species and genotypes

Hanke, V., Diekmann, M.

*Ziel des Projektes ist die Erarbeitung methodischer Grundlagen zur Isolation und Kultivierung von Protoplasten aus pflanzlichen Geweben und zur Induktion regenerativer Prozesse aus teilungsfähigen Protoplastenkulturen bei Malus. Damit werden Voraussetzungen für die Erzeugung von genetisch neuartigem Ausgangsmaterial für die Apfelmehrzüchtung geschaffen. Als Spendermaterial für die Untersuchungen werden züchterisch relevante Apfelsorten und -unterlagengenotypen sowie*

Apfelwildarten verwendet. Das zu etablierende In-vitro-System ist die Grundlage für die zukünftige Erzeugung somatischer Hybriden über Protoplastenfusion und für die genetische Transformation.

*The aim of the project consists in the development of basic methods for the isolation and cultivation of protoplasts from plant tissue and for the induction of the regeneration process in dividing protoplast cultures in Malus. This will be the precondition for the production of genetically new starting material for apple breeding. As donor plants for these investigations apple cultivars, rootstocks, and apple wild types of breeding interest are used. The in-vitro-system which has to be established will be applied as a basic system for the production of somatic hybrids via protoplast fusion and for the genetic transformation.*

Im Rahmen des von der DFG finanzierten Forschungsprojektes „Transformation und somatische Hybridisierung bei Apfel“, das gemeinsam mit dem Institut für Angewandte Genetik der Freien Universität Berlin bearbeitet wird, wurden im Berichtsjahr die Methoden der Protoplastenisolierung und -kultivierung intensiv an sechs verschiedenen Apfel-Genotypen untersucht, da die erfolgreiche pflanzliche Regeneration aus Protoplasten züchterisch relevanter Genotypen die Grundlage für eine zukünftige symmetrische und asymmetrische Hybridisierung ist. Es handelt sich dabei um die Apfelunterlagen Pi-AU 51-11 (2n) und M26 (2n), die Apfelwildart *Malus hupehensis* (2n) und die Apfelsorten 'Gala' (2n), 'Pinova' (2n) und 'Releika' (4n) androgenen Ursprungs. Als Ausgangsmaterial für die Protoplastengewinnung wurde junges Mesophyllgewebe von etiolierten Sproßspitzen sowie von Sprossen aus der Kotyledonenkultur nach freier Abblüte verwendet. Es ist davon auszugehen, daß die bisherigen Mißerfolge bezüglich Lebens- und Teilungsfähigkeit der ausplattierten Protoplasten nach der Isolierung erheblich von der Vorkultur der Spenderpflanze abhängen. Aus diesem Grund wurden in diesem Projekt die bisher als Kulturgefäße genutzten Erlenmeyerkolben durch 280 ml fassende Gläser mit 77er Mündung ersetzt. Die Kultivierung der Spenderpflanzen erfolgte auf verschiedenen Medien, insbesondere bei Variation des Auxinanteils, und bei unterschiedlichen Lichtverhältnissen. Durch parallele Untersuchungen in Berlin und Pillnitz konnte nachgewiesen werden, daß die Qualität der Protoplasten nachhaltig durch die Zusammensetzung des Lichtspektrums, dem die Spenderpflanzen in der Vorkultur ausgesetzt sind, beeinflusst zu sein scheint. Der erfolgreiche Verdau des Gewebes hing sowohl von einer ein- bzw. zweiwöchigen Kultivierung der Spenderpflanzen im Dunklen, als auch von der Enzymlösung ab. Durch die Kombination von Cellulase und Macerozyme ohne Zusatz von Salzen konnte bei allen getesteten Genotypen ein positives Ergebnis erzielt werden. Die Isolierung erfolgte vergleichsweise nach der Methode von OCHATT (1993) und HUANCARUNA PERALES und SCHIEDER (1993). Die Protoplastenausbeute schwankte zwischen 0,9 und  $10,9 \times 10^6$  Protopla-

sten/g FM. Eine entscheidende Verbesserung im Hinblick auf die Vitalität der Protoplasten ermöglichte die Verwendung von Seewasser bei der Isolierung. Deformationen der Protoplasten, wie sie nach Behandlung mit der von OCHATT beschriebenen CPW-Salz-Lösung auftraten, konnten bei Protoplasten in Seewasser nicht beobachtet werden. Drei verschiedene Kultivierungsmethoden wurden untersucht: die Kultur der Protoplasten in flüssigem Medium, in Natrium-Alginat und in Seaplaque-Agarose. Mit Hilfe der beiden erstgenannten Kultivierungsmethoden konnten Mikrokalluse, die bis zu 10 Zellen aufwiesen, herangezogen werden. Dies hatte jedoch die Protoplastenisolierung nach dem Protokoll von HUANCARUNA PERALES und SCHIEDER zur Voraussetzung. Für die Kultivierung wurden Medien mit verschiedenen Hormonkonzentrationen und -zusammensetzungen, sowie unterschiedliche Kohlenstoffquellen getestet. In Fortsetzung der bisherigen Untersuchungen zur Protoplastierung eines breiten Genotypen-Spektrums bei *Malus* gelang nach entsprechender Umstellung der Methodik die Induktion von Mikrokallusen bei *M.hupehensis*, *M. baccata*, 'Pinova', 'Pilot' und 'Gala' mit einer Teilungsfrequenz der ausplattierten Protoplasten von 22...74 % bei Flüssigkultur und 25...46 % in Na-Alginat nach 14 Tagen. Ausschlaggebend für den Erfolg sind die Vorkultur der Spenderpflanze (Lichtspektrum bei der Anzucht, Kulturgefäß, Nährmedium), die Verwendung von Seewasser bei der Isolierung, sowie die Kultivierung der Protoplasten bei 27 °C.

#### Abstract:

The project is realized in cooperation with the Free University of Berlin, Institute of Applied Genetics. For the rootstocks Pi-AU 51-11 (2n) and M26 (2n), the wild species *Malus hupehensis* (2n) and the cvs. 'Gala' (2n), 'Pinova' (2n) and 'Releika' (4n) of androgenic origin the conditions for protoplast isolation and cultivation were investigated more detailed. It should be proceeded, that the ability of plated protoplasts to divide is in strong dependence on the preculture of the donor plant. In this connection for the donor plant the following factors were changed: culture vessels for plant cultivation, auxins in the medium, light conditions. For protoplast isolation the methods of OCHATT (1993) and HUANCARUNA PERALES and SCHIEDER (1993) were compared. A decisive increase of the viability of isolated protoplasts was obtained by the use of sea water in comparison with CPW-salts. For *M.hupehensis*, *M. baccata*, 'Pinova', 'Pilot' and 'Gala' the initial plating efficiency after 14 days of cultivation was 22...74 % in liquid medium and 25...46 % in Na-alginat.

(BAZ-4114, DFG)

In Zusammenarbeit mit: Huancaruna Perales, Schieder, FU Berlin

### 2.3. Adventivsproßbildung an Kotyledonen bei Süßkirsch-Populationen und Kolchizinierung in vitro Adventitious shoot regeneration from cotyledonary tissue in sweet cherry populations and colchizine treatment in vitro

Hanke, V.; Schuster, M.; Wolfram, B.

Ziel der Arbeiten ist die Erstellung von polyploidisiertem Ausgangsmaterial für die Sauerkirschenzüchtung durch Etablierung eines effizienten In-vitro-Regenerationssystems an Kotyledonen. Verwendet werden unreife und reife Embryonen von Süßkirsch-Kreuzungspopulationen, von denen Kotyledonenexplantate in vitro etabliert werden. Die Regeneration von Sproßkulturen veränderten Ploidiegrades erfolgt durch Kolchizinierung in unterschiedlichen Phasen der Induktion und Regeneration. Die Bestimmung des Ploidiegrades wird am In-vitro-Material und an überführten Pflanzen mittels Durchflußcytometrie durchgeführt.

The investigations are concentrated on the production of polyploid plant material for sour cherry breeding by the use of an efficient regeneration system in vitro on cotyledons. Imature and mature embryos from sweet cherry crossing populations are used. The regeneration of adventitious shoots with altered ploidy level will be induced by colchizine treatment at different phases of induction and regeneration. The assessment of the ploidy is carried out on in vitro material and on greenhouse plants by flow cytometric analysis.

In Fortsetzung der bisher vorliegenden Ergebnisse wurden die Untersuchungen auf die Förderung der Induktion von Sprossen an den Kotyledonen konzentriert. Verwendet wurden die Muttersorten 'Lapins', 'Sunburst', 'Van' und 'Büttners' in freier Abblüte, sowie 'Lapins' und 'Sunburst' nach Selbstung. Untersucht wurde der Einfluß des Zeitpunkts der Entnahme der Früchte (1-3 Wochen vor der Vollreife) auf die Regenerationsfähigkeit der Kotyledonen sowie die Regenerationsfähigkeit im proximalen und distalen Bereich der Kotyledonenexplantate. Für die Induktion wurden TDZ-haltige Medien verwendet. Die Kolchizinierung wurde an den Kotyledonen nach der Etablierung durch eine 7-tägige Kultivierung auf einem Nährboden mit 50...150 mg/l Kolchizin durchgeführt. Aufgrund von unverhältnismäßig hohen Fremdinfectionen durch Hefepilze und Bakterien nach

der Inkulturnahme der Explantate konnten von 2120 etablierten Embryonen lediglich an 66 Kotyledonenexplantaten Sprosse zu Pflanzen regeneriert werden. Die Regenerationsfähigkeit der Kotyledonen in Bezug auf den Zeitpunkt der Entnahme der Früchte ist stark muttersortenabhängig. Die 1994 regenerierten Genotypen wurden zu Pflanzen angezogen und noch in der In-vitro-Phase bezüglich ihres Ploidiegrades untersucht.

Abstract:

On the base of previous results the investigations were concentrated on the increase of the shoot bud induction on cotyledons. The cultivars 'Lapins', 'Sunburst', 'Van' and 'Büttners' open pollinated, and 'Lapins' and 'Sunburst' self pollinated were used. 2120 embryos were established in vitro, only on 66 cotyledons a shoot regeneration took place because of a disproportionate infection of the explants with yeast and bacteria. The regeneration ability of the cotyledons in dependence on the time of fruit harvest was different for the mother cultivars. The regenerants obtained in 1994 were evaluated by flow cytometry for their ploidy level.

(BAZ-4119)

073

### 2.4. Entwicklung einer Methode zur Regeneration von Sprossen über Kotyledonenkultur bei Malus-Populationen und Screening der Sproßkulturen mittels In-vitro-Inokulation auf Anfälligkeit gegenüber Apfelmehltau Regeneration of shoots from cotyledonary tissue of Malus populations and screening of shoot cultures for apple mildew resistance by in vitro inoculation

Hanke, V.; Kriehoff, O.; Fischer, C.

Ziel der Arbeiten ist die Erstellung von definiertem Ausgangsmaterial für die Apfzüchtung durch Etablierung eines effizienten Regenerationssystems an Kotyledonen und einer einfachen Methode der Bewertung von in vitro erzeugten Regeneratsprossen bezüglich ihrer Anfälligkeit gegenüber *Podosphaera leucotricha* (Ell. et Ev.) Salm. Verwendet werden unreife Embryonen von Malus-Kreuzungspopulationen, an deren Kotyledonenexplantaten Adventivsprosse induziert werden. Das Screening der regenerierten Sprosskulturen bezüglich Resistenz erfolgt

Tab. 1: Ergebnisse der Ploidiegradbestimmung der regenerierten Genotypen

| Art der Kolchizinierung   | Anzahl untersuchter Genotypen | Anteil Genotypen (%) mit dem Ploidiegrad nach flow-cytometrischer Messung an In-vitro-Blättern |     |         |      |
|---|-------------------------------|--|-----|---------|------|
|   |                               | 2n   | 3n  | 2n + 4n | 4n   |
| Regenerate in 0,1% kolchizinhaltigem Flüssigmedium (2 Tage)                   | 52                            | 84,6   | -   | 13,5    | 1,9  |
| Kotyledonen nach der Etablierung mit 50 mg/l Kolchizin im Festmedium (7 Tage) | 29                            | 72,4   | 3,5 | 10,3    | 13,8 |

*in vitro* an abgetrennten Blättern durch Inokulation mit dem Pilz und mikroskopischer Bewertung von Konidienanzahl je Konidienträger 4 Tage nach der Inokulation

The investigations are concentrated on the production of defined plant material for apple breeding by the use of an efficient regeneration system on cotyledons and of a simple screening method of *in vitro* regenerated shoots regarding their susceptibility to *Podosphaera leucotricha*. Immature embryos from *Malus* crossing populations are used, adventitious shoots are regenerated on their cotyledon explants. The screening of resistance is carried out *in vitro* on detached leaves of the regenerants by inoculation of the fungus and microscopic assessment of the number of conidia per conidiophore 4 days after inoculation.

26 verklonte Regenerate aus den Untersuchungen zur Kotyledonenkultur 1993 mit den Kreuzungskombinationen '(Idared x Helios) x (Golden Delicious x Alkmene) bzw. x (Idared x Golden Delicious)' wurden in das Gewächshaus überführt und mit einer Konidien suspension ( $6 \times 10^5$  Konidien/ml) von Pillnitzer *Podosphaera leucotricha*-Herkünften am 16.02.95 inokuliert. Die Bonitur der Mehltauanfälligkeit im Gewächshaus erfolgte 3 und 6 Wochen nach Inokulation anhand einer 9stufigen Boniturskala. Die Genotypen der Nachkommenschaften aus der Kotyledonenkultur 1993 zeigten signifikante Unterschiede in ihrer Anfälligkeit *in vitro* gegenüber *P. leucotricha*. Eine hohe Korrelation ergab sich zwischen dem Mittelwert der erfaßten Anzahl Konidien pro Konidienträger und den Werten aus 3 Wiederholungen. Ein Vergleich der Anfälligkeit von Genotypen *in vitro* und im Gewächshaus zeigte, daß unabhängig vom Zeitpunkt der Bonitur der 2 Wiederholungen im Gewächshaus keine signifikanten Unterschiede zwischen den Genotypen auftraten (Abb.1). Die Ergebnisse der Gewächshausbonitur des Mehltaubefalls korrelierte nicht mit den *in vitro* erzielten Ergebnissen. Dies unterstreicht die Schwierigkeit der Frühselektion im Gewächshaus bei 1jährigen Untersuchungen. Die Variabilität der Reaktion der Genotypen gegenüber Mehltaubefall im Gewächshaus war gering. Um exakte Ergebnisse über den Befallsgrad der Genotypen zu erhalten, sind Langzeituntersuchungen im Freiland notwendig. Aus den Untersuchungen zur Kotyledonenkultur 1994 gingen folgende Regenerate hervor, die ebenfalls entsprechend verklont und in das Gewächshaus überführt wurden: 133 Klone entstanden aus 33 Samen der Population 'Pinova x Resi', 37 Klone aus 12 Samen der Population 'Pinova x Retina', 71 Klone aus 21 Samen der Population 'Pinova x Pirel' und 70 Klone aus 24 Samen von 'Pinova' freier Abblüte. Das In-vitro-Verhalten dieser Klone hinsichtlich Mehltaubefall wurde untersucht und steht zur Auswertung an. Im Gewächshaus wurden Resistenz-Screenings gegenüber Schorf und Mehltau durchgeführt. Die Anfälligkeit gegenüber Mehltau war an den juvenilen Pflanzen sehr hoch. Schorfresistenz wurde wie folgt nachgewiesen: Population 'Pinova x Retina': 24 Pflanzen untersucht, 4 resistent; Population 'Pinova x

Resi': 48 Pflanzen untersucht, 14 resistent. Die unter Verwendung von Samen aus Sortenkombinationen ermittelten methodischen Ergebnisse bezüglich Induktion von Adventivsprossen an Kotyledonenexplantaten wurden im Berichtsjahr an Material aus Wildartenkreuzungen überprüft. Bei Verwendung von 0,1 mg/l TDZ im Medium und bei Inkulturnahme am 60. Tag nach der Bestäubung lag der Anteil regenerationsfähiger Explantate zwischen 8 und 93 % in Abhängigkeit von der Kreuzungskombination. Eine Minderung der Makroelemente nach MS um die Hälfte führt auch zur Verringerung der Regenerationsfähigkeit. Zur Prüfung der genetischen Variabilität aller aus den Kotyledonen eines Samen hervorgegangenen Regenerate wurden von 15 bzw. 17 Genotypen gleichen Ursprungs 10 verschiedene Isoenzymssysteme untersucht. Dabei konnten in beiden Versuchsserien unterschiedliche Isoenzymmuster innerhalb der regenerierten Genotypen eines Samens bei den Enzymen Leucinaminopeptidase (LAP), Superoxid-dismutase (SOD), Diaphorase (DIA), Peroxidase (PER) und  $\alpha$ -Esterase ( $\alpha$ -EST9) beobachtet werden. Ein wiederholender Test soll klären, ob die Veränderungen tatsächliche somaklonale Variationen darstellen.

Abstract:

26 cloned plants, regenerated from cotyledons of two populations in 1993, were transferred to the greenhouse and inoculated by a conidial suspension of *Podosphaera leucotricha*. The susceptibility to mildew was evaluated 3 and 6 weeks after inoculation. The genotypes showed significant differences in their susceptibility to mildew *in vitro*, in the greenhouse no differences between genotypes were found. The results of the greenhouse screening were not correlated with the results obtained *in vitro*. The variability in the reaction of the genotypes to mildew under greenhouse conditions was low.

In 1994 311 different clones from 90 seeds of 4 populations were regenerated from cotyledons. The genotypes are screened *in vitro*. In the greenhouse the plants were screened to mildew and scab.

(BAZ-4120)

074

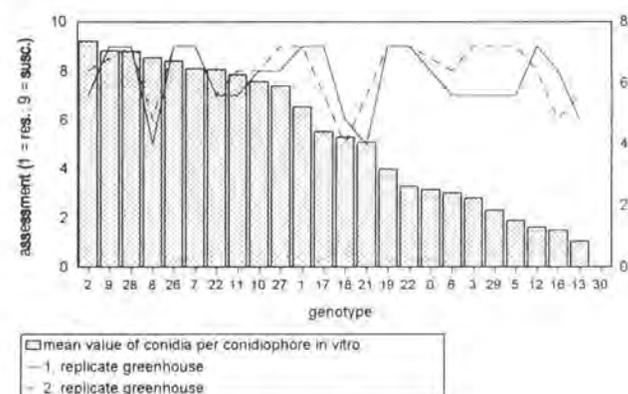


Abb. 1: Screening for resistance to *Podosphaera leucotricha*:  
*in vitro* - Infection on detached leaves  
 greenhouse - Infection on potted plants

## 2.5. Erzeugung von Haploiden durch Antherenkultur bei *Malus*

### Induction of haploids in *Malus* by anther culture Höfer, M.

*Ziel ist die Erzeugung von haploiden bzw. homozygoten Pflanzen bei Malus. Der Einsatz von homozygotem Ausgangsmaterial kann insbesondere bei Obstgehölzen mit langen Generationszyklen nach direkter Selektion zu einer Erhöhung der Effizienz im Züchtungsprozess führen. Gleichzeitig werden neue Möglichkeiten für die Analyse des Karyotyps und der genetischen Manipulation eröffnet. Methode: Analyse des androgenen Entwicklungsprozesses durch Variation physikalischer, chemischer und physiologischer Bedingungen; Optimierung der Embryoidinduktion und -entwicklung; basierend auf morphologischen Studien, Ausarbeitung von Regenerationsstrategien; Adaptation.*

*The aim is the induction of haploid or homozygous plants in Malus. The use of homozygous plant material can improve the efficiency in the breeding process after the direct selection, especially in fruit trees with a long reproductive cycle. New possibilities are offered for genetic studies and genetic manipulation. Method: Analysis of the androgenic developmental process by the variation of physical, chemical and physiological conditions; optimization of the embryo induction and development; based on morphological studies, strategies for plant regeneration will be worked out; flow cytometry; determination of homozygosity; polyploidization.*

In Fortsetzung der bisher vorliegenden Ergebnisse zur Antherenkultur bei Apfel wurde zur Verbesserung der Embryoidinduktion der Einfluß unterschiedlicher Kältevorbehandlungen an Knospen bei Variation der Temperatur in der Phase der Knospenentwicklung untersucht. Eine Erniedrigung der Anzuchttemperatur für Winterreiser führte nahezu bei allen Genotypen zu einer Erhöhung der Effizienz in der Induktionsphase, wobei die Induktionsraten der Knospenentnahme aus dem Freiland teilweise überschritten wurden. Die Notwendigkeit des Einsatzes einer Kältevorbehandlung an isolierten Knospen zur Erhöhung der embryogenen Potenz wird genotypabhängig vom Ausgangsmaterial (Knospen von Winterreisern bei unterschiedlicher Anzuchttemperatur bzw. aus dem Freiland) bestimmt. Mit Vergrößerung der Embryoidanzahl steht nach erfolgreicher Regeneration und Überführung ins Gewächshaus bzw. Freiland eine größere Anzahl von Regeneraten einzelner Genotypen für erste morphologische Untersuchungen und Resistenztestungen zur Verfügung. Durchgeführte Isoenzymanalysen belegen für alle Regenerate, unabhängig vom Ploidiegrad, die Homozygotie. Bei einer detaillierten Betrachtung der Allelverteilung der Leucinaminopeptidase in den Regeneraten der Apfelsorte 'Alkmene', dem Isoenzym, welches zum Nachweis der Homozygotie herangezogen wurde, trat das ideale Spaltungsverhältnis von 1 : 1 auf. Erste Untersuchungen zur gametoklonalen Variabilität zeigen, daß bei einem Drittel der Primärembryoide in

den entstandenen Regeneraten Allelsprünge zu verzeichnen sind.

#### Abstract:

On the basis of previous results of anther culture in apple the application of various cold treatments of buds was examined with variation of the temperature during the development of bud woods for the improvement of embryogenic efficiency. The requirement of a cold treatment of isolated flower buds is determined by the genotype and the donor material (bud woods forced at different temperatures; orchard). By increasing the number of embryoids a higher amount of regenerants can be used after a successful regeneration and acclimatization for morphological studies and for selection of resistance. All regenerants are homozygous. First investigations of the gametoclonal variation demonstrate allele changes in the regenerants of a third of the primary embryoids.

(BAZ-4109)

In Zusammenarbeit mit: Keulemans, Fruittelcentrum, K.U. Leuven, Belgien; Lespinasse, INRA, Angers, Frankreich

075

## 2.6. Methode zur Induktion der In-situ-Parthenogenese mit anschließender In-vitro-Kultur der unreifen Embryonen bei Apfel

### Induction of in situ parthenogenesis and in vitro culture of immature embryos in apple Höfer, M.

*Ziel ist es, eine Methode zur Induktion der In-situ-Parthenogenese mit anschließender In-vitro-Kultur der unreifen Embryonen als alternativen Weg zur Gewinnung von Haploiden bzw. Homozygoten bei Apfel zu erarbeiten und die Effizienz gegenüber der Antherenkultur zu analysieren. Methode: Induktion der parthenogenetischen Entwicklung der Embryonen mittels bestrahltem Pollen; Optimierung der Bestrahlungsdosis, der Bestäubungsmethode und des Erntetermins der Früchte in Bezug auf die Embryoqualität und Keimungsrate; Embryo- und Kotyledonenkultur; Bestimmung des Ploidiegrades und der Homozygotie; Untersuchung des Pollenschlauchwachstums und der Samenanlagenentwicklung; Polyploidisierung.*

*The aim is to work out a method for the induction of in-situ-parthenogenesis with in-vitro culture of immature embryos as alternative way of haploid induction in apple and to analyse the efficiency in comparison with the anther culture. Method: induction of the parthenogenetic development of embryos with irradiated pollen; optimization of the irradiation dose, pollination method and harvesting time of fruits, regarding embryo quality and germination capacity; embryo and cotyledon culture; determination of the ploidy level and the homozygosity; examination of the pollen tube growth and the development of ovules; polyploidization.*

Im Berichtsjahr wurde zur Induktion der In-situ-Parthenogenese mittels Reizbestäubung neben dem Pol-

len des Rotmarkers von Klon 'TNR 31-35' (Angers; Frankreich) zum Vergleich Pollen der entsprechenden Wildart *Malus pumila* var. *Niedzwetzkyana* vom Standort Dresden-Pillnitz eingesetzt. Die Keimungsraten der Pollen unterschieden sich nur geringfügig. Die Erfassung der Fruchtausätze bei zwei Muttersorten zeigte bei Bestäubung mit 500 Gy bestrahltem Pollen sowohl mit als auch ohne Kastration nur Werte zwischen 0 und 1,5 %. Diese geringen Ansätze müssen auf Grund eines Vergleiches mit den ebenfalls niedrigen Kontrollvarianten (Rotmarkerpollen ohne Bestrahlung: 8,4...11 %) und der freien Abblüte (6,3...13 %) sowie unter Zugrundelegung der Ergebnisse der vorangegangenen Versuchsjahre auf ungünstige Witterungsverhältnisse zurückgeführt werden. Ungeachtet der geringen Fruchtausbeuten konnten die im Vorjahr getroffenen Feststellungen zum Merkmal „Samen pro Frucht“, welches für jeden Genotyp von der Bestrahlungsdosis und dem Jahreseinfluß unabhängig ist, sowie zur Embryonenanzahl pro Frucht, die in erster Linie durch den Jahreseinfluß bestimmt wird, bestätigt werden. Fluoreszenzmikroskopische Beobachtungen des Pollenschlauchwachstums zeigen für die untersuchten Bestrahlungsvarianten, daß die Pollenschläuche in die Samenanlagen einwachsen. Weiterführende Untersuchungen zum Ursprung der Embryonen stehen noch aus. Regenerate, die im Verlauf der Embryo- bzw. Kotyledonenkultur in den zwei vorangegangenen Versuchsjahren entstanden sind, wurden ins Gewächshaus bzw. Freiland überführt und stehen ebenfalls für erste morphologische Untersuchungen sowie Resistenztestungen zur Verfügung. Alle Regenerate weisen den grünen Phänotyp auf und sind diploid. Detaillierte Isoenzymanalysen, in welche in Abhängigkeit von der Muttersorte 2...5 Isoenzymmarker zur Charakterisierung des Zygotiegrades einbezogen wurden, belegen für 30% der Regenerate die Homozygotie.

**Abstract:**

The induction of in-situ parthenogenesis was carried out with pollen of the red marker 'TNR 31-35' (Angers, Frankreich) and pollen of the wild type *Malus pumila* var. *Niedzwetzkyana* of the location Dresden-Pillnitz respectively. The proposed statements for each genotype, that the number of seeds pro fruit is independent of the irradiation dose and the year effect and that the embryo number per fruit is firstly determined by the influence of the year, were corroborated with the results of this year. The regenerants of the embryo and cotyledon culture of the last two experimental years were transferred to the greenhouse and the orchard and can be used for first morphological studies and for selection of resistance. All regenerated plants express the green colour and are diploid. Isozyme analysis demonstrates that 30 % of the regenerants are homozygous.

(BAZ-4110)

In Zusammenarbeit mit: Keulemans, Fruiteelcentrum, K.U. Leuven, Belgien; Lespinasse, INRA, Angers, Frankreich

076

**2.7. Erzeugung von haploidem Ausgangsmaterial bei *Prunus* auf dem Weg der In-situ-Parthenogenese mit anschließender In-vitro-Kultur**

**Induction of haploid basic material in *Prunus* by means of in situ parthenogenesis and in vitro culture**

Höfer, M.

*Ziel ist die Induktion von haploiden Embryonen und die darauf aufbauende Ausarbeitung methodischer Lösungen zur Regeneration von Pflanzen bei *Prunus*. Für die Züchtungsschwerpunkte bei Kirsche, Resistenz und Selbstfertilität, ist der Einsatz von homozygotem Ausgangsmaterial von größter Bedeutung. Methode: Induktion der parthenogenetischen Entwicklung der Embryonen mittels bestrahltem Pollen; Optimierung der Bestrahlungsdosis, der Bestäubungsmethode und des Erntetermins der Früchte in bezug auf die Embryoqualität und Keimungsrate; Embryo- und Kotyledonenkultur; Bestimmung des Ploidiegrades; Untersuchung des Pollenschlauchwachstums und der Samenanlagenentwicklung; Polyploidisierung.*

*The aim is the induction of haploid embryos and the development of methods for plant regeneration in *Prunus*. The use of homozygous starting material is of great importance for the breeding priorities in cherry, the resistance and selffertility. Method: induction of the parthenogenetic development of embryos with irradiated pollen; optimization of the irradiation dose, pollination method and harvesting time of the fruits regarding the embryo quality and germination capacity; embryo and cotyledon culture; determination of the ploidy level; investigation of the pollen tube growth and the development of ovules; polyploidization.*

Aufbauend auf vorangegangenen Versuchen zur Testung der Bestrahlungsdosis zur Auslösung der parthenogenetischen Entwicklung mittels Reizbestäubung war es das Ziel, den Entwicklungsverlauf bei konstanter Bestrahlungsdosis unter Einfluß der Dosisleistung sowie vorhergehender Kastration der Blüten im Vergleich zur Kontrolle (Rotmarkerpollen ohne Bestrahlung) und zur freien Abblüte zu testen. Erhebungen des Fruchtausatzes zeigen 21 Tage nach der Bestäubung nur geringfügige Unterschiede zur freien Abblüte (freie Abblüte 'Altenburger': 77 %; freie Abblüte 'Kordia': 70 %). Demgegenüber tritt im Vergleich zum Entwicklungsverlauf zur freien Abblüte bereits nach 30 Tagen eine starke Reduzierung um 50 % auf, welche nach 70 Tagen gegen Null führt (freie Abblüte 'Altenburger': 21 %; 'Kordia': 9 %). Eine Untersuchung der Samen ergab bereits zum ersten Entnahmeterrain, 30 Tage nach der Bestäubung, fehlende Embryonen für alle durchgeführten Kreuzungsvarianten mit Pollen des Rotmarkers *Prunus cerasifera* 'Atropurpurea'. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt befinden sich 5 Regenerate der Kotyledonen- bzw. Embryokultur der zwei vorangegangenen Versuchsjahre im Freiland. Mit Hilfe cytometrischer Messungen konnten drei als haploid identifiziert werden. Diese drei Pflanzen weisen im Vergleich zu

den diploiden Regeneraten starke Wuchsdepressionen auf. Untersuchungen zur Homozygotie stehen noch aus.

Abstract:

On the base of previous results of in-situ parthenogenesis by irradiated pollen the development of fruits and embryos was examined by testing different dose/power ratios and the influence of emasculation in comparison with variants without irradiation and with open pollination. While 21 days after pollination the fruit sets are nearly the same, dependently only on the genotype the further development shows a strong decrease by 50 % already after 30 days which reaches nearly 0 % after 70 days, respectively. At the present time 5 regenerants of the embryo and cotyledon culture of the last two experimental years were transferred to the orchard. With the help of cytometry three ones could be identified as haploids. These 3 plants demonstrate strong growth depression.

(BAZ-4111)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz

077

### 3. Zuchtmethodik Breeding Methods

#### 3.1. Entwicklung von tetraploidem Ausgangsmaterial für die Kirschenzüchtung Development of tetraploid basic material for cherry breeding

Schuster, M.; Hanke, V.; Wolfram, B.

*Mit Hilfe der Chromosomenverdopplung durch Kolchizinbehandlung an selbstfertilen Süßkirschen in vivo und in vitro sollen tetraploide Kirschenklone entwickelt werden. Die tetraploiden Kirschen sind neues Ausgangsmaterial für die Kirschenzüchtung. Schaffung von Saatgut durch ein Kreuzungs- und Selbstungsprogramm mit selbstfertilen Süßkirschen; Polyploidisierung der Samen mit Kolchizin in vivo und in vitro; Ermittlung des Ploidiegrades mit durchflußcytometrischen Messungen und Chromosomenzahlbestimmung.*

*Tetraploid cherry clones should be developed by the chromosome doubling with colchicine treatment of selffertile sweet cherries in vivo and in vitro. These tetraploid cherries are to be applied in the cherry breeding as basic material. Production of seeds by a crossing and selfing program with selffertile sweet cherries; polyploidization of the seeds by application of colchicine in vivo and in vitro; ploidy detection by using flow cytometric measuring and chromosome counting.*

1995 wurden aus 13 durchgeführten Kreuzungskombinationen mit den Sorten 'Büttners Rote Knorpel', 'Knauffs Schwarze Knorpel', 'Krupnoplodnaja', 'Lapins', 'Sunburst' und 'Van' ca. 1800 Samen geerntet. Von diesen Samen wurden 415 Samen zu Polyploidisierungsversuchen in vivo und 465 Samen zur direkten

Anzucht ohne Behandlung verwendet. Die Samen wurden hierzu nach der Ernte vom Fruchtfleisch, der Samenschale und der Samenhaut befreit und auf feuchtem Filterpapier zwei Tage angequollen. Im Anschluß wurden die Samen polyploidisiert und zur Anzucht in Erde überführt. Die Polyploidisierung der Samen erfolgte auf mit 0,3 %- bzw. 0,5 %iger Kolchizininlösung getränktem Filterpapier für 48 h bzw. 72 h. Im Ergebnis konnten durch flowcytometrische Messungen sieben tetraploide Pflanzen bestimmt werden. Die polyploidisierten Kirschen wurden alle mit einer 0,5 %igen Kolchizininlösung behandelt. Aus den Arbeiten des Jahres 1994 konnten aus den In-vitro- und In-vivo-Versuchen zu Polyploidisierung von Süßkirschen vier tetraploide und drei chimäre (4x + 2x) Genotypen selektiert werden. Eine genaue phänotypische und cytologische Beschreibung dieser Pflanzen erfolgt in den nächsten Jahren.

Abstract:

Seeds of 13 cross populations were used for the polyploidization of sweet cherries. The seeds were treated with 0,3 % or 0,5 % colchicinesolution for 48 h or 72 h respectively. After flowcytometric investigations seven tetraploid seedlings were determined.

(BAZ-4106)

078

#### 3.2. Cytogenetische Untersuchungen von Introgressionsklonen des Apfels, *Malus domestica* Borkh., mit Resistenz gegenüber pilzlichen Schaderregern

**Cytogenetical investigations of apple *Malus domestica* Borkh introgression clones with resistance to fungal diseases**

Schuster, M.; Schreiber, H.; Fischer, C.

*Ziel: Erhalt von Informationen über den Fremdgenomanteil in resistenten Apfelklonen durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) mit genomischer DNA von den Donorwildarten. Methodik: Erarbeitung der Methode der FISH für den Apfel mit repetitiven DNA-Sonden; Isolierung der genomischen Gesamt-DNA aus den Apfelarten und Nutzung als DNA-Sonden für die In-situ-Hybridisierung; genomische In-situ-Hybridisierung an krankheitsresistenten Klonen des Kulturapfels mit DNA-Proben der Donorarten.*

*Aim: Information about the alien genome content in apple introgression clones are to obtain by using fluorescent in situ hybridization (FISH) with genomic DNA of the donor wild species. Methods: adaptation of the FISH technique for the species *Malus* with repetitive DNA probes for in situ hybridization; isolation of genomic DNA from apple species and using it as DNA-probes for in situ hybridization; genomic in situ hybridization by disease resistant apple clones with DNA-probes of donor species.*

Zur Erarbeitung der Methode der Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) beim Apfel wurden erste Untersuchungen mit repetitiven DNA-Sonden durchgeführt. Für

diese Arbeiten wurden Mitosepräparate der Apfelsorte 'Pinova' verwendet. Als DNA-Proben kamen eine biotinmarkierte 5,8S-18S-25S-rDNA-Probe und eine digoxigeninmarkierte 5S-rDNA-Probe zum Einsatz. Die sekundären Einschnürungen auf den Chromosomen als Lokalisationsorte der Nukleolus-Organisator-Region (NOR) sind in homogen gefärbten Mitosepräparaten des Kulturapfels infolge der geringen Größe der Chromosomen (1...3,5 µm) nur sporadisch zu beobachten. Mit Hilfe der FISH konnten mit der 5,8S-18S-25S-rDNA-Probe auf acht Chromosomen Hybridisierungssignale lokalisiert werden. Die NOR-Regionen befinden sich im telomeren Bereich der kurzen Arme dieser vier Chromosomenpaare. Durch die Silbernitratfärbung von Interphasekernen des Apfels zur Darstellung der aktiven Nukleoli konnten maximal sechs Nukleoli beobachtet werden. Es ist möglich, daß infolge des polyploiden Charakters des Apfelgenomes nicht alle NOR aktiv sind. Der Locus für die 5S-rDNA-Gene wurde auf einem weiteren metazentrischen Chromosomenpaar in zentromernaher Position lokalisiert. Eine genaue karyologische Zuordnung der markierten Chromosomen ist durch die Variabilität der Chromosomenlängen infolge der Präparation und der Ähnlichkeit der Chromosomen in den Metaphasepräparaten schwer möglich. Es konnte aber gezeigt werden, daß DNA-Sonden ein nützlicher Marker zur Charakterisierung der sehr kleinen Apfelchromosomen sein können.

#### Abstract:

A 5,8S-18S-25S-rDNA-probe and a 5S-rDNA probe were used for fluorescent in situ hybridization to metaphase chromosomes of *Malus x domestica* cv. 'Pinova'. The 5,8S-18S-25S-rDNA-probe was detected of the end of the short arms of four chromosome pairs. The locus for the 5S-rDNA probe was localized near the centromere of a metacentric chromosome pair.

(BAZ 4123)

In Zusammenarbeit mit: Fuchs, J. IPK, Gatersleben, AG Cytogenetik; Ahne, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

079

### 3.3. Untersuchungen zum Ausmaß molekularer Polymorphismen beim Apfel

#### Investigations of the extent of molecular polymorphisms in apple

Schreiber, H.; Fischer, C.; Dathe, B.

*In einer neuen Apfelsorte müssen mehrere sehr komplexe Merkmale kombiniert vorliegen. Das erfordert eine Nachkommenschaftsgröße von einigen Tausend Sämlingen. Wie alle Baumobstarten durchläuft der Apfel eine juvenile Phase, die die Selektion verzögert. Dadurch entstehen hohe Kosten. DNA-Marker eröffnen die Möglichkeit zur Entwicklung von Frühselektionsverfahren. RAPD-PCR und RFLP-Analysen in der Gattung *Malus* sollen Kenntnisse über den Polymorphiegrad bringen. Nach Auswahl von züchtungsrelevanten Nachkommen-*

*schaften mit ausreichendem Polymorphiegrad sollen Marker für Resistenz und Fruchtqualität kartiert werden.*

*In a breeding programme planned to combine several characters required in a new commercial apple variety, the initial progeny size should be at least several thousand ones. However, as a tree crop apple needs to pass through a juvenile period prior to cropping. The juvenile period delays selection. DNA markers give the opportunity for an early selection technique. The degree of polymorphism in *Malus* will be detected by the RAPD-PCR and RFLP analysis. Progenies with a sufficient degree of polymorphism will be used for mapping resistance genes and quantitative loci for fruit quality.*

a) Entwicklung molekularer Marker für Komponenten der Fruchtqualität: Es konnten mehrere Kreuzungsnachkommenschaften ausgewählt werden, die einen ausreichend hohen Grad an molekularen Polymorphismen und genügend Variabilität in Qualitätsmerkmalen aufweisen. In drei Versuchsjahren wurden an 12 Nachkommenschaften Komponenten der Fruchtqualität erfaßt. Detaillierte quantitative Analysen zeigen erwartungsgemäß kontinuierliche Variationen im mittleren Fruchtgewicht, im Zuckergehalt, im Gesamtsäuregehalt, im Höhen-Breiten-Index, in der Ausprägung der Deckfarbe, in der Kerbung der Kelchgrube und anderen äußeren Eigenschaften. In zwei Nachkommenschaften wurden mehrgipflige Verteilungen festgestellt, die eine Beteiligung eines Majorgens vor allem bei der Fruchtgröße vermuten lassen. Weiterhin wurde, um eventuell Allele mit größeren Effekten erfassen zu können, der Gesamtsäuregehalt (Azidität) über HPLC-Analysen in Einzelsäuren, d. h. in den Gehalt an Apfelsäure, Zitronensäure, Ascorbinsäure, Chinasäure und Bernsteinsäure, aufgegliedert. Bisher konnten die ausgewählten Nachkommenschaften mit den 200 verfügbaren Primern via RAPD-PCR getestet werden. Es wurden Kandidaten als Marker für die o.g. Merkmale gefunden, für die eine exakte QTL-Kartierung mit einem für Heterozygote geeigneten Computerprogramm durchgeführt werden soll. Außerdem ist vorgesehen, mit einigen Hundert Primern weiterzuarbeiten. Das ist mit Aufwand verbunden, da die gesamte Nachkommenschaft von mehr als 80 Bäumen einzeln durchgetestet werden muß. Der Versuch einer Zusammenfassung der Kreuzungspopulation in wenige Gruppen mit extremen Merkmalsausprägungen führte nicht zu dem gewünschten Ergebnis. Wie aus der Tabelle 1 zu entnehmen ist, können Fruchtmerkmale in einzelnen Kreuzungen auch monogen vererbt werden. Durch Marker könnte die in bestimmten Kreuzungen mit amerikanischen Sorten häufig auftretende unerwünschte blau-rote Farbausprägung im Sämlingsstadium eliminiert werden. Bei der Entwicklung molekularer Marker für die Fruchtqualität ist die Herstellung spezieller Nachkommenschaften aus Kreuzungen an bereits definierten Genotypen sicher notwendig, um die wesentlich an der Variabilität beteiligten Gene kartieren zu können.

Tab. 1: Spaltungsanalyse der blau-roten Fruchtfärbung in drei Apfelmischungen

| Kreuzungs-<br>Nummer | Anzahl Bäume |     | $\chi^2_{3:1}$ |
|----------------------|--------------|-----|----------------|
|                      | blau-rot     | rot |                |
| 87 300               | 48           | 19  | 0,40           |
| 87 304               | 70           | 20  | 0,37           |

b) Nutzung von RAPD-Markern zur Charakterisierung schorfresistenter Sorten und Wildarten: Aus einem EG-Projekt zur Markierung des Apfelmischgenoms sind 10 RAPD-Marker bekannt, die mehr oder weniger eng mit dem  $V_f$ -Gen für Schorfresistenz aus *Malus floribunda* gekoppelt sind. Diese Marker wurden zur Charakterisierung von Pillnitzer Re-Sorten® und schorfresistenten Wildarten im Vergleich zu mehr oder weniger stark anfälligen Kultursorten und Wildarten genutzt. Dazu wurden die PCR-Bedingungen für die einzelnen Primer hinsichtlich Primerkonzentration, Taq-Polymerase, Konzentration genomischer DNA, Mg-Ionenkonzentration und Temperaturprofil variiert. So war es möglich, für sieben der zehn Primer reproduzierbare Ergebnisse zu erhalten. Bei den restlichen drei Primern konnte die erwartete spezifische RAPD-Bande nicht erzeugt werden. In der Tabelle 2 sind die Marker entsprechend ihrer Kopplung zum  $V_f$ -Locus geordnet. Der Marker M 18-900 liegt wahrscheinlich mit ca. 10 % Rekombinationsfrequenz auf der einen Seite des  $V_f$ -Locus, wohingegen die anderen Marker von A 15-900 bis A 11-2200 mit steigender Rekombinationsfrequenz auf der anderen Seite von  $V_f$  auf dem Chromosom lokalisiert sind. Der Marker AM 19-2200 soll mit 1...2 cM eng am  $V_f$ -Gen liegen, macht aber unter unseren PCR-Bedingungen große Schwierigkeiten. Sehr eng gekoppelte Marker müßten tatsächlich Sequenzen aus *M. floribunda* darstellen. Vom  $V_f$ -Locus weiter entfernt liegende Markersequenzen können während der mehrmaligen Rückkreuzung mit Kultursorten bei einigen resistenten Sorten durch Rekombination verlorengegangen sein oder sind, wie am Beispiel des Markers A 11-

2200, doch unabhängig von der  $V_f$ -Region aus *M. floribunda* im Genom auch anfälliger Sorten präsent. Werden die Re-Sorten nach der Anwesenheit von Markersequenzen beurteilt, hat 'Rene' das kleinste *Malus floribunda*-Segment, d.h. die geringste unerwünschte Wildartinformation außer dem  $V_f$ -Allel. An nächster Stelle folgt 'Retina', die nur für den diesseits von  $V_f$  lokalisierten Marker M 18-900 homologe DNA-Sequenzen aufweist. Dagegen können bei 'Remo' und 'Rewena' aller Markerbanden jenseits des  $V_f$ -Locus erzeugt werden. Die Abbildung 1 zeigt das eindeutige Verhalten der Marker C 08, M 18 und D 20 bei den schorfresistenten Sorten. Darüber hinaus sind die  $V_f$ -Marker genutzt worden, um zur Erschließung neuer Resistenzgene Wildarten zu charakterisieren. So ist in Tabelle 3 ersichtlich, daß neben *M. floribunda* auch die schorfresistente Art *M. micromalus* spezifische  $V_f$ -Markerbanden aufweist. Bei *M. pumila* (Nr. 2) ist mit dem Primer M 18 eine schwache 900er Bande vorhanden, wogegen der Primer A 15 bei *M. pumila* Nr. 2 und Nr. 188 ein etwa 20 Basenpaare kleineres Fragment erzeugt.

Tab. 3: An-(+)- bzw. Abwesenheit (-) von RAPD-Markern für den  $V_f$ -Locus bei schorfresistenten Wildarten

| Art                     | Sortiments-Nr. | Marker       |              |              |
|-------------------------|----------------|--------------|--------------|--------------|
|                         |                | M 18<br>-900 | A 15<br>-900 | D 20<br>-500 |
| <i>Malus floribunda</i> | 12             | +            | +            | +            |
| <i>M. floribunda</i>    | 54             | +            | +            | +            |
| <i>M. floribunda</i>    | 359            | +            | +            | +            |
| <i>M. pumila</i>        | 2              | (+)*         | (+)*         | -            |
| <i>M. pumila</i>        | 188            | -            | (+)*         | -            |
| <i>M. micromalus</i>    | 158            | +            | +            | +            |
| <i>M. micromalus</i>    | 531            | +            | +            | +            |
| <i>M. microcarpa</i>    | 60             | -            | -            | -            |
| <i>M. zumi</i>          | 274            | -            | -            | +            |

\*schwache Banden bzw. etwas kleinere Fragmente

Tab. 2: An-(+)- bzw. Abwesenheit (-) von RAPD-Markern für das  $V_f$ -Gen bei schorfresistenten ( $V_f+$ ) und anfälligen ( $V_f-$ ) Sorten

| Sorte            | Marker       |                |              |              |               |               |               |           |
|------------------|--------------|----------------|--------------|--------------|---------------|---------------|---------------|-----------|
|                  | M 18<br>-900 | AM 19<br>-2200 | A 15<br>-900 | D 20<br>-500 | C 08<br>-1100 | W 08<br>-1050 | A 11<br>-2200 | $V_f$ Gen |
| 'Remo'           | -            | +              | +            | +            | +             | +             | +             | +         |
| 'Retina'         | +            | -              | -            | -            | -             | -             | +             | +         |
| 'Reanda'         | -            | -              | +            | -            | +             | +             | +             | +         |
| 'Rewena'         | -            | +              | +            | +            | +             | +             | +             | +         |
| 'Rene'           | -            | -              | -            | -            | -             | -             | +             | +         |
| 'Releika'        | +            | -              | +            | +            | -             | +             | +             | +         |
| 'Resi'           | -            | -              | +            | +            | +             | +             | +             | +         |
| 'Prima'          | +            | -              | +            | +            | +             | +             | +             | +         |
| 'James Grieve'   | -            | -              | -            | -            | -             | -             | +             | -         |
| 'Carola'         | -            | -              | -            | (+)*         | -             | /             | +             | -         |
| 'BV 67/47'       | -            | -              | -            | -            | -             | /             | +             | -         |
| 'Gold.Delicious' | -            | -              | +            | -            | -             | -             | +             | -         |

\* schwache Bande  
/ nicht untersucht

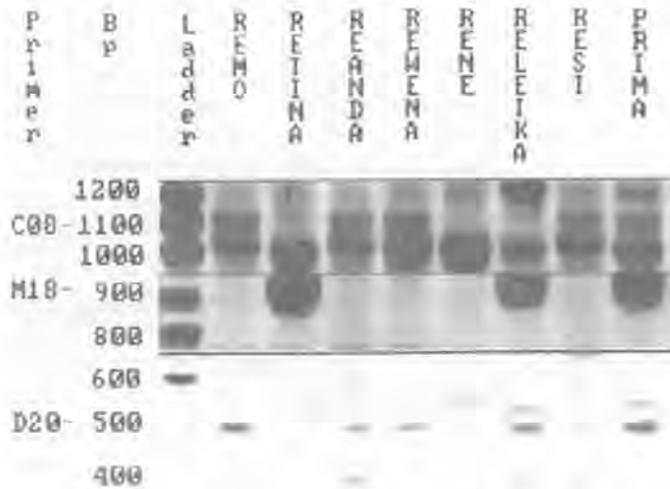


Abb. 1: Nachweis von RAPD-Markern für die  $V_7$ -Resistenz bei verschiedenen schorffresistenten Apfelsorten

In Fortführung dieser Arbeiten sollen weitere Re-Sorten® und resistente Klone sowie Wildarten aus der Genbank charakterisiert werden.

#### Abstract:

To develop DNA markers for fruit quality in apple two progenies were selected which show a high extent of molecular polymorphism and a wide variability in fruit characters as fruit size and shape, content of sugar, total acid content, content of apple acid, citric acid, ascorbic acid. By testing of 200 random primers we were able to find correlations between RAPD-bands and fruit characters. This must be confirmed by QTL mapping. In another programme seven RAPD markers linked to the  $V_7$  scab resistance gene of *M. floribunda*, which were available from the CEC funded apple mapping project have been used to characterise the Pillnitz scab resistant cultivars and species from the collection of the genebank Dresden-Pillnitz. In the cultivar 'Rene' none of the tested Primers generated the specific RAPD band. Compared to it in 'Remo' and 'Rewena' six of seven markers were present. Moreover in two varieties of *M. micromalus* three  $V_7$ -linked markers tested were present.

(BAZ-4116)

In Zusammenarbeit mit: Büttner, Fischer, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz

080

### 3.4. Molekulargenetische Charakterisierung der Selbstinkompatibilität bei der Süßkirsche Molecular genetic characterization of selfincompatibility in sweet cherry Schreiber, H.; Wolfram, B.

Die meisten Süßkirschen sind selbststeril und bilden Inkompatibilitätsgruppen, d. h. der Obstbauer muß 2...3 kompatible Sorten anpflanzen. Das verursacht zusätzliche Kosten. Durch die Züchtung selbstfertiler Sorten kann das Problem gelöst werden. Die Analyse der S-Allel-Konfiguration über kontrollierte Bestäubung ist langwierig und wegen der Umweltabhängigkeit des Merkmals unsicher. Deshalb sollen über molekulargenetische Analysen Voraussetzungen zur Identifizierung verschiedener S-Allele geschaffen werden. Dazu soll der S-Locus über die RAPD-PCR markiert und mit Hilfe von Sequenzinformationen aus anderen Arten molekular identifiziert werden.

Most sweet cherries are selfsterile and form incompatibility groups. At least 2...3 cross-compatible cultivars must be planted in an orchard. This requires extra expense. With the breeding of selffertile cultivars the problem can be solved. The analysis of S-alleles by controlled pollinations are time-consuming and uncertain because of the dependence on environment of the character expression. Molecular genetic analysis may be help to identify the S-alleles. The S-locus of sweet cherry will be marked via RAPD markers and we will try to identify the S-locus by use of sequence information of other plant species.

Als Voraussetzung für die Markierung und Identifizierung des Genlocus, der die Selbstinkompatibilität bei der Süßkirsche kontrolliert, sind neben einem Sortiment an Kirscharten mit definierter S-Allel-Konfiguration segregierende Nachkommenschaften von Vorteil. Da es vom Aufwand her nicht möglich ist, eine vollständige Nachkommenschaft mit einer akzeptablen Anzahl Bäume über Kreuzungen bezüglich der S-Allele zu definieren, wurde die Nachkommenschaft der Kreuzung zwischen der selbststerilen Mutantensorte 'Stella' ( $S_3S_4$ ) und 'Nabigos' ( $S_4S_5$ ) hinsichtlich des Fruchtansatzes bei isolierter und freier Abblüte analysiert. Das Ergebnis zweijähriger Untersuchungen ist in Tabelle 1 zusammengefaßt. Obwohl der Fruchtansatz und die Selbstinkompatibilitätsreaktion stark durch Witterungseinflüsse - im extremen Fall durch Blütenfrost - beeinträchtigt werden, ist es gelungen, eine klare 3 : 1 Spaltung nachzuweisen. So können bei der Markersuche zwei Gruppen gebildet werden. Von den 34 Bäumen dieser Kreuzung und weiteren Sorten verschiedener Sterilitätsgruppen wurde DNA isoliert. Ein Vortest mit etwa 100 Oligonukleotidprimern via RAPD-PCR zeigte einen deutlich

niedrigeren Polymorphiegrad als beim Apfel. Die Arbeiten sollen mit der Testung weiterer Zufallsprimer und spezifischer Primer aus den Solanaceen fortgesetzt werden.

Tab. 1: Spaltungsanalyse für das Merkmal 'Fruchtansatz' in der Nachkommenschaft der Kreuzung 'Nabigos' x 'Stella'

| Anzahl Bäume |              | $\chi^2_{3:1}$ | P %     |
|--------------|--------------|----------------|---------|
| selbstfertil | selbststeril |                |         |
| 25           | 9            | 0,04           | 90...70 |

**Abstract:**

As a prerequisite for molecular genetic analysis and identification of the S-locus in sweet cherry a cross between the cultivar 'Nabigos' (S<sub>4</sub>S<sub>5</sub>) and the selffertile mutant 'Stella' (S<sub>3</sub>S<sub>4</sub>) have been analysed. In the progeny of this cross it was possible to observe a 3 : 1 segregation ratio for the fruit set by means of controlled self-pollination in comparison to free blooming. This population will be used for PCR analyses with random primers and S-locus specific primers from other plant species (Solanaceae).

(BAZ-4122)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz

081

**3.5. Zusammenhänge zwischen Polyaminstoffwechsel und Resistenz gegenüber abiotischen und biotischen Streßfaktoren bei Apfel**

**Relations between polyamine metabolism and resistance to abiotic and biotic stress factors in apple**

Schmidt, S.

Unter der Einwirkung verschiedenartiger Streßfaktoren kommt es bei einer Vielzahl von Pflanzen zu charakteristischen Veränderungen des Polyaminstoffwechsels, die als Streßabwehr interpretiert werden. Wenn sich bei Obstgehölzen ähnliche Mechanismen nachweisen lassen, wären Grundlagen für die Entwicklung effektiver biochemischer Resistenztests gegeben. Schwerpunkte unter den Streßfaktoren sind Schorf und Mehltau sowie Frost. Es werden quantitative chromatografische Analysen (HPLC) der Polyamine Putrescin, Spermidin und Spermin in Abhängigkeit vom Entwicklungszustand an Apfelgenotypen mit unterschiedlichen Resistenzeigenschaften durchgeführt.

Under the influence of different stress factors in many plants there are characteristic changes in polyamine metabolism, which are thought to be defence mechanisms. If we could find similar mechanisms in fruit trees, there would be elements for the development of effective biochemical resistance tests. Important stress factors are scab and mildew as well as frost. Quantitative chromato-

graphic analyses (HPLC) of the polyamines putrescine, spermidine, and spermine are carried out in relation to the developmental state of apple genotypes with different characters of resistance.

Durch eine Erweiterung des vorhandenen HPLC-Gerätesystems konnten wir 1995 die quantitative chromatografische Analyse der säurelöslichen Polyamine insofern verbessern, als durch die Anwendung eines Elutionsmittelgradienten eine größere Trennschärfe der einzelnen Komponenten des gereinigten Polyaminextraktes und insgesamt eine Zeiteinsparung je Analyse erreicht wurden. Die Durchführung der laufenden Analysen an dem in der Vegetationsperiode 1995 fixierten Blattmaterial wird dadurch wesentlich beschleunigt. Mit den zuvor abgeschlossenen Analysen des 1994 fixierten Materials konnten die Ergebnisse aus der Vegetationsperiode 1993 im wesentlichen bestätigt werden. Wahrscheinlich bedingt durch den unterschiedlichen Witterungsverlauf in den beiden Jahren, lagen die Analysenwerte zu Beginn der Vegetationsperiode 1994 höher als 1993, was aber mit einem steileren Abfall der Polyamingehalte im Mai verbunden war. Im Gegensatz dazu war auch 1995 ein deutlicher Unterschied im Polyamingehalt der Kurztrieb- und Langtriebblätter zu beobachten; der höhere Polyamingehalt der jüngeren Langtriebblätter unterstreicht die Altersabhängigkeit der Polyaminkonzentration. Besonders auffällig waren wiederum die niedrigen Polyamingehalte der untersuchten Wildarten, insbesondere von *Malus floribunda*, die als Resistenzdonoren in der Apfelerziehung eine große Rolle spielen. Die im Verlauf der Vegetationsperiode 1995 beobachteten genotypabhängigen Änderungen des Polyamingehaltes ließen sich in charakteristischer Weise als Quotient des Spermidin- und Putrescingehaltes bündeln; die bereits im Jahr 1994 beobachtete Rangfolge der Genotypen zum ersten Untersuchungstermin konnte bestätigt werden. Diese Rangfolge ist dadurch gekennzeichnet, daß *M. floribunda* trotz niedrigster Polyamingehalte die höchsten Spermidin-/Putrescin-Quotienten aufwies. Überraschend ist, daß die zwei untersuchten 'Re'-Sorten sich weit entfernt voneinander in diese Rangordnung einfügen. Höhere Spermidin-/Putrescin-Quotienten könnten in der Weise interpretiert werden, daß sie Ausdruck eines zum Spermidin verschobenen Gleichgewichts in der Biosynthese der Polyamine sind, in der Putrescin eine Vorstufe des Spermidin ist und Spermidin die physiologisch aktivere Verbindung darstellt. Diese Hypothese muß durch weitere Untersuchungen zum Polyaminstoffwechsel geprüft werden.

**Abstract:**

The quantitative chromatographic analyses of the polyamines putrescine, spermidine, and spermine in leaf tissue from field grown trees of different apple cultivars and wild species confirmed a more or less pronounced decrease of the polyamine concentration during the vegetation period. A remarkable result is the low polyamine content in apple species like *Malus floribunda*. On the other hand the spermidine/putrescine quotient was higher

in *M. floribunda* than in cultivars susceptible to scab and mildew.

(BAZ-4118)

082

#### 4. Qualitätsprüfung Quality screenings

##### 4.1. Entwicklung von Selektionskriterien für hohe Fruchtqualität bei der Züchtung resistenter Apfelsorten

**Development of selection criteria for high fruit quality in breeding of resistant apple varieties**

Sandke, G.

*Es soll versucht werden, die Fruchtqualität der Apfelfrüchte aus dem Resistenzzüchtungsmaterial anhand von Indikatorsubstanzen (Polyamine) auf ihre Lagereignung und Streßbelastbarkeit zu charakterisieren. Mit Hilfe von HPLC-Analysen werden Polyamingehalt und -zusammensetzung erfaßt.*

*The quality of apple fruits from the resistant breeding material shall be characterized for storability and streß load by means of marker substances (polyamines). The polyamine content and composition will be analysed by HPLC.*

Züchtungsbegleitend sind zur Bewertung der Fruchtqualität an umfangreichem Züchtungsmaterial Proben von Apfel-, Sauerkirsch-, Erdbeer- und Himbeerfrüchten auf ihren Zucker- und Säuregehalt analysiert worden. Darüber hinaus wurden an zwei Apfelpopulationen der in den Früchten vorhandene Säuregehalt, das dazugehörige Säureprofil und die Quantität der organischen Säuren ermittelt, um sie für die markergestützte Selektion für Fruchtqualitätsmerkmale zu nutzen. Während in allen Früchten Apfel-, Zitronen-, Ascorbin-, China- und

Bernsteinsäure vorhanden war, ist ihre quantitative Zusammensetzung z. T. sehr unterschiedlich gewesen. Sehr säurereiche Früchte besaßen meistens einen sehr hohen Gehalt an Apfelsäure. Von 2850 Erdbeersämlingen und 105 Himbeersämlingen wurden zur Beurteilung der Fruchtqualität an reifen Früchten die für den Zuckergehalt repräsentativen Refraktometerwerte und der pH-Wert der Preßsäfte gemessen. Die gewonnenen Analysenwerte wurden von Dathe zur weiteren züchterischen Bearbeitung des Pflanzenmaterials genutzt. Mit der Analyse der Polyamine (Putrescin, Spermidin, Spermin) im kutikulären Gewebe von Äpfeln konnte nachgewiesen werden, daß sich während der Lagerung an ihrem Gehalt erhebliche Veränderungen vollziehen. Spermin wird in Früchten aller geprüften Sorten und Züchtungskclone sofort nach der Einlagerung auf einen minimalen Gehalt vermindert, der dann über die gesamte Lagerzeit so niedrig bleibt. Bei den Veränderungen des Putrescin- und Spermidingehaltes lassen sich die Äpfel im wesentlichen drei unterschiedlichen Gruppen zuordnen, die etwa mit der Dauer der Lagerfähigkeit in Verbindung zu bringen sind. Es gibt aber auch Früchte, die je nach den Putrescin- oder Spermidingehaltsveränderungen unterschiedlichen Gruppen zugeordnet werden können.

Abstract:

The fruit quality of breeding material is estimated by analysis of sugar- and acid content in apple-, sourcherry-, strawberry-, and raspberry fruits and by the composition and amount of organic acids in apple fruits. With the change of polyamins (putrescine, spermidine, spermine) in apple fruit cuticula throughout the storage it is possible to characterize the storage time of apple fruits.

(BAZ-4107)

083

# Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

## Institute for Breeding of Crop Plants

Groß Lüsewitz

Das Institut hat die Aufgabe, Basismaterial von verschiedenen landwirtschaftlichen Kulturpflanzenarten mit hoher Resistenz und Produktqualität unter Einbeziehung der Nährstoffeffizienz zu erstellen. Hierbei werden, unter Berücksichtigung der am Inst. f. Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen erarbeiteten Methoden, sowohl klassische als auch biotechnische und gentechnische Verfahren eingesetzt. Die Auswahl der Kulturpflanzenarten erfolgt nach dem langfristigen Forschungsbedarf.

The Institute for Breeding of Crop Plants develops basic material with high resistance to pathogens and with high quality for the production of food and industrial plants. Priority is given to species such as rye, triticale, oats, rape and potato.

### 1. Erstellung von Basismaterial Development of basic material

#### 1.1. Erstellung von Basismaterial der Kartoffel mit Resistenz gegen PVM und Überempfindlichkeit gegen PVS unter Berücksichtigung der Anfälligkeit gegen PLRV, PVY und PVX

**Breeding of basic material of potato with resistance to PVM and hypersensitivity to PVS, considering the susceptibility to PLRV, PVY and PVX**

Darsow, U.

*Zuchtmaterial, das Gene der Wildarten Solanum gourlayi, S. spegazzinii, S. chacoense oder S. megistacrolobum enthält, sowie fortgeschrittenes Zuchtmaterial mit Resistenz gegen PVS wird auf quantitative Resistenz gegenüber PVM untersucht. Nach Inokulation durch Saftabreibung erfolgt der serologische Test an Augenstecklingspflanzen des Knollennachbaus. Ziel ist die Akkumulation von Minorgenen für PVM-Resistenz.*

*Breeding material, which contains genes of the wild potato species Solanum gourlayi, S. spegazzinii, S. chacoense or S. megistacrolobum as well as advanced breeding clones with hypersensitivity to PVS are assayed*

*for quantitative resistance to PVM. Plants have to be inoculated by rubbing with sap of PVM carrying plants. Plants grown from their tubers are serologically tested. The aim is to accumulate minor genes for resistance to PVM.*

Zur Kompensation hoher Virusanfälligkeit bei Material der Zuchtichtung 'PVM-Resistenz' sind Klone mit hoher Resistenz gegen PLRV, PVY, PVX und PVS nötig. Beispiele für solche Kreuzungspartner enthält Tabelle 1. Sie zeigt Ergebnisse langjähriger serologischer Testungen an 4 vorhandenen Klonen (a,b,c,d), von denen a und b an die Sortenzüchtung abgegeben wurden. Die Klone wurden nur visuell im Zuchtgarten bereinigt und standen neben mehr oder weniger kranken Nachbarn. Es gab keine Virusfreimachung und keinen Nachschub aus gesunder Basis, sondern nur Feldnachbau.

Tabelle 1 zeigt die Auswirkung hoher Virusresistenz im Nachbau bei visueller Bereinigung. Bekämpfung der Aphiden und frühem Krautziehen. Es fällt auf, daß PVM-Befall an Bedeutung gewinnt, wo andere Viren durch Resistenz weitgehend ausgeblendet waren. An zwei Standorten mit unterschiedlichem Blattlausbefall (Groß Lüsewitz chemische Bekämpfung, Aschersleben keine Bekämpfung) wurde an gleichem Material 1994 im mehrjährigen Feldnachbau am jeweiligen Standort der

Tab 1: Virusbefall (%) in Proben von  $\leq 20$  Knollen in der Augenstecklingsprüfung bei visueller und serologischer Untersuchung (ELISA), a: BAZ-GL-77.9156/6, b: BAZ-GL-77.9157/3, c: BAZ-GL-79.9191/41, d: BAZ-GL-83.9345/17

| Jahr | PLRV |   |   |   | PVY |     |      |    | PVM |    |    |    | PVX |    |    |    | PVS |      |    |   |
|------|------|---|---|---|-----|-----|------|----|-----|----|----|----|-----|----|----|----|-----|------|----|---|
|      | a    | b | c | d | a   | b   | c    | d  | a   | b  | c  | d  | a   | b  | c  | d  | a   | b    | c  | d |
| 1982 | 0    | 0 | 0 | - | 0   | 0   | 0    | -  | 0   | 0  | 0  | -  | 0   | 0  | 0  | -  | 0   | 0    | 0  | - |
| 1983 | 0    | 0 | 0 | - | 0   | 0   | 0    | -  | 0   | 0  | 0  | -  | 0   | 0  | 0  | -  | 0   | 0    | 0  | - |
| 1984 | 0    | 5 | 0 | 0 | 0   | 0   | 0    | 0  | 0   | 10 | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0   | 5    | 0  | 0 |
| 1985 | 0    | 0 | 0 | 0 | 0   | 0   | 0    | 0  | 0   | 60 | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 12 | 0   | 0    | 0  | 0 |
| 1986 | 0    | 0 | 0 | 5 | 5   | 0   | 0    | 0  | 0   | 60 | 50 | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0   | 20   | 50 | 0 |
| 1987 | 0    | 0 | 0 | 0 | 0   | 0   | 0    | 0  | 0   | 5  | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0   | 0    | 53 | 0 |
| 1988 | 0    | 5 | 0 | 0 | 80? | 20  | 10   | 0  | 40? | 20 | 0  | 75 | 0   | 20 | 0  | 0  | 0   | 0    | 0  | 0 |
| 1989 | -    | 0 | 5 | 0 | -   | 0   | 100? | 0  | -   | 0  | 0  | 10 | -   | 0  | 10 | -  | 0   | 100? | 0  | 0 |
| 1990 | 5    | 0 | 0 | 5 | 0   | 25? | 0    | 0  | 0   | 25 | 0  | 15 | 0   | 0  | 0  | 0  | 5   | 25   | 0  | 0 |
| 1991 | 5    | 0 | 0 | 0 | 0   | 5   | 0    | 0  | 0   | 0  | 0  | 33 | 0   | 0  | 0  | 0  | 0   | 0    | 0  | 0 |
| 1992 | 6    | 0 | 0 | 0 | 0   | 0   | 0    | 15 | 0   | 0  | 25 | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 12  | 0    | 0  | 0 |
| 1993 | 0    | 0 | 0 | 0 | 0   | 0   | 0    | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 0   | 0    | 0  | 0 |
| 1994 | 0    | 0 | 0 | 0 | 0   | 0   | 0    | 0  | 0   | 0  | 0  | 0  | 10  | 0  | 0  | 0  | 0   | 0    | 0  | 0 |

Virusbefall ermittelt. Während in Groß Lüsewitz 85 % aller virusinfizierten Pflanzen von ~ 250 Klonen PVS hatten und nur 3 % aller Virusinfektionen auf PVM entfielen, war diese Relation für Aschersleben an 13 Klonen 44 : 27, d.h. 27 % aller Virusinfektionen erfolgten durch PVM. Die Kombination von PVM-Resistenz mit PVS-Überempfindlichkeit erfordert parallele Zuchtarbeit zur PVS-Resistenz. Im Prüfungsjahr 1994/95 befanden sich 72 Klone in der PVS-Kontaktprüfung, dem ersten Schritt der Auslese auf PVS-Resistenz. Davon blieben 22 Klone PVS-frei. Im Pfropftest befanden sich 21 Klone, nur ein Klon wurde nicht durch Pfropfung mit PVS infiziert. In der Zuchtrichtung 'PVM-Resistenz' befinden sich 160 Klone aus 21 Kreuzungskombinationen in der weiteren Selektion und Resistenzprüfung. Quantitative Resistenz aus *S. gourlayi* und *S. spgazzinii* bildet die Grundlage. 137 Klone dieses noch wilden Materials wurden durch Saftabreibung 1994 inokuliert und 1995 am Nachbau von 2 bis 8 Pflanzen serologisch getestet, soweit nicht Befall mit anderen Viren oder Nichtauflaufen zum Ausscheiden führte. 57 Klone zeigten im ELISA-Test keinen PVM-Befall. Bei diesen Vergleichsweise mitgeprüfte Sorten wurden 0 bis 100 % infiziert.

**Abstract:**

137 clones which contain genes of the wild potato species *Solanum gourlayi* and/or *S. spgazzinii* were assayed for quantitative resistance to PVM. Two to eight plants per clone were inoculated by rubbing with sap of PVM carrying plants (Saco, Szigal) in 1994 and plants grown from their tubers were tested in 1995. No PVM attack was detected in 57 clones by ELISA. Varieties and other clones had 0 to 100 % PVM. Assessment of PVS-resistance was conducted as contact test with 72 clones and by grafting with PVS containing shoot. In the first case 22 of 72 clones were free of PVS. Only 1 clone of 21 grafted remained PVS-free. In table 1 four suitable cross parents are written to compensate high susceptibility of PVM-resistant clones to PLRV, PVY, PVX, and PVS. The attack by viruses occurred in conditions of growing from tubers from year to year. The attack of PVM was many times higher at Aschersleben without chemical protection against aphids than at Groß Lüsewitz, with a chemical control of the pest.

(BAZ-3113)

In Zusammenarbeit mit: Schüler, Genbank Groß Lüsewitz, IPK Gatersleben

084

**1.2. Bereitstellung von Basismaterial mit *Phytophthora*-Resistenz (Kraut- und Braunfäule) auf breiter genetischer Basis (*Solanum*-Arten)**

**Breeding of basic material with resistance to *Phytophthora infestans* (foliage and tubers) using a wide range of *Solanum* species**

Darsow, U.

*Ausgehend von Wildformen ist durch Rückkreuzung und Kombinationszüchtung, gefolgt von mehrjähriger Individualauslese, in etwa 6 Kreuzungsschritten Basismaterial zu züchten, das an die Sortenzüchtung abgegeben werden kann. Konventionelle (auf tetraploider und dihaploider Stufe) und unkonventionelle Zuchtmethoden werden genutzt. Kraut- und Braunfäuleresistenz sind zu verbinden. Starke Mängel der Ausgangsformen hinsichtlich der meisten wichtigen Merkmale sind auf ein Minimum zu reduzieren. Entsprechend vielfältige Untersuchungen werden durchgeführt.*

*Starting with wild *Solanum* species resistant basis material has to be bred by backcrossing and combination. For about 6 crossing steps several years of assaying the important characteristics of the potato are necessary to select cross parents. Conventional and unconventional breeding methods are used on tetraploid and diploid level to combine desired genes. Resistance of the foliage and of tubers are to be paid attention to. Heavy defects of wild species concerning the most traits are to be reduced to a minimum. Correspondingly manifold tests and examinations have to be performed.*

Ausgehend von Wildformen ist durch Rückkreuzung und Kombinationszüchtung, gefolgt von mehrjähriger Individualauslese, in etwa 6 Kreuzungsschritten Basismaterial zu züchten, das an die Sortenzüchtung als Vererber abgegeben werden kann. Im Jahr 1995 befanden sich dazu 23 knollenbildende Arten mit insgesamt 79 Herkünften (verschiedene Quellen) in unterschiedlichem Stadium der Bearbeitung (Züchtung in der Wildart, Auslese als Resistenzquelle, Artkreuzung oder Fusion, Rückkreuzung, Kombination). Beim Wildmaterial wurden 1995 vor der Braunfäuleresistenzprüfung bereits 48 % der Klone verworfen, vorwiegend wegen Virusbefalls. Weitere Ursachen waren die Fertilität, Knollenmerkmale und mangelnde Krautfäuleresistenz. Die Aussaat 1995 enthielt keine reinen Wildarten. 24 000 Pflanzen gelangten in die negative Massenauslese auf Krautfäuleresistenz. Davon erwiesen sich 1,6 % als sehr anfällig (Note 1), 12,5 % als anfällig (Note 3), 30,5 % als mittel. Sämlinge mit Note 9 (10,5 %), 8 (17,2 %) und 7 (27,7 %) sowie ein Teil mit Note 5 wurden getopft, auf Knollenmerkmale bewertet und selektiert sowie zur Braunfäule-Resistenzprüfung vorbereitet. Prüfungen auf Braunfäuleresistenz erfolgen nach dem Sämlingsjahr bei Feldanbau in den 5 folgenden Jahren.

Die Prüfung auf Krautfäuleresistenz erfaßt nach den Sämlingen in diesem Langzeitprojekt Wildmaterial und B-, C-, D-, E-Klone im Einzelblatttest sowie B-, C-, D-Klone und einen Teil des Wildmaterials in der Feldprüfung mit künstlicher Inokulation. Geprüft wurde mit

Tab. 1: Ergebnisse der Krautfäule-Resistenzprüfung 1995

|                              | Anteil (%) des Wildgenoms im Basismaterial |                  |                   |                    |                    |                     |
|------------------------------|--|------------------|-------------------|--------------------|--------------------|---------------------|
|                              | > 1,45                                     | 1,46 bis<br>3,45 | 3,46 bis<br>13,99 | 14,00 bis<br>26,99 | 27,00 bis<br>77,99 | 78,00 bis<br>100,00 |
| <b>Feldprüfung</b>           |  |                  |                   |                    |                    |                     |
| Anteil (%) Klone zu anfällig | 36   | 16               | 18                | 29                 | 15                 | 31                  |
| Note der zu anfälligen (x)   | 5,1  | 4,1              | 4,3               | 4,3                | 4,8                | 4,0                 |
| Note der behaltene Klone (x) | 8,2  | 8,3              | 8,4               | 8,4                | 8,6                | 8,6                 |
| <b>Einzelblatttest</b>       |  |                  |                   |                    |                    |                     |
| Anteil (%) Klone zu anfällig | 60   | 11               | 36                | 30                 | 11                 | 13                  |
| Note der zu anfälligen (x)   | 3,4  | 4,9              | 4,3               | 3,9                | 4,4                | 4,7                 |
| Note der behaltene Klone (x) | 5,6  | 7,7              | 7,4               | 8,3                | 8,3                | 8,7                 |

einem Gemisch der Isolate 1.2.3.4.5.6.7.(8).10.11, 1.2.3.4.6.7.8.(10).11 und 1.2.3.4.5.6.7.10.11. Die Ergebnisse der Prüfung 1995 faßt Tabelle 1 zusammen und enthält alles Material von reinen Wildarten bis zu E-Klonen, geordnet in Gruppen nach dem wahrscheinlichen Anteil des Wildgenoms der Resistenzquelle im jeweiligen Klon ( $F_1 = 50, 25$  oder  $75\%$ ,  $B_2 = 12,5\%$ ,  $B_6 = 0,78\%$ ). In der Notenskala 1 bis 9 bedeutet 1 „sehr hoch anfällig“, 9 „sehr resistent“.

Zur Feldprüfung auf Krautfäule-Resistenz 1995 ist festzustellen, daß die Wetterbedingungen eine hinreichende Differenzierung beim frühen bis mittelfrühen und sehr spät reifenden Material ermöglichten, während der mittelspäte Bereich durch Trockenheit teilweise begünstigt wurde. Jedoch 29 mitgeprüfte Sorten (Noten nach Katalog des BSA  $3,7 = 6,3$  nach unserem umgekehrten Bewertungsschlüssel), wurden hier bis 4 Noten schlechter eingestuft, im Mittel 1,6 Noten schlechter. Für symmetrische und asymmetrische Fusionate von *S. bulbocastanum* (*blb*) und *S. pinnatisectum* (*pnt*) mit *tbr* wurden Resistenz- u.a. Prüfungen fortgeführt. Tabelle 2 zeigt Ergebnisse der Kombination 7258, die insgesamt unzureichendes Resistenzniveau aufwies. Der „Eltern-Nachkommen-Vergleich“ weist auf Ausfälle in der Funktion des Wildgenoms hin. Noch deutlicher wurde dieses Verhalten bei Fusion anderer Herkünfte von sehr hoch resistentem *pnt* direkt ( $2n = 2x\ pnt + 2n = 2x\ tbr$ ) und als Artbastard ( $2n = 2x\ pnt \times blb + 2n = 3x\ tbr$ ). Während im ersteren Falle der „Eltermittelwert“ 6,1 betrug, hatten die Fusionate einen Mittelwert der Krautfäule von 4,6. Bei der letztgenannten Kombination war die Relation 5,6 : 4,1 bei etwa 60 geprüften Klonen. Damit gibt es für *pnt* bisher nur

negative Erfahrung bei Fusionsexperimenten zur Übertragung von Resistenz gegen *Phytophthora infestans*.

#### Abstract:

Starting with wild *Solanum* species basic material has to be bred by backcrossing and combination in 6 cross steps to produce parents or great parents of new potato varieties. In 1995 23 species with 79 different accessions were tested and partly crossed. 48 % of the wild clones in the greenhouse are discarded because of attack by viruses, fertility, susceptibility to *Phytophthora* of foliage. 24 000 plants from seeds were inoculated by the fungus and nearly 40 % eliminated. Wild clones and interspecific crosses grown in the greenhouse and backcrosses of the third to the sixth field grown year usually are tested to late blight resistance by single leaves or by inoculation on an isolated field. Results are written in table 1 according to the probable percentage of wild genom in the clones ( $F_1 = 25$  to  $75\%$ ,  $B_2 = 12,5\%$ ,  $B_6 = 0,78\%$ ,  $B =$  backcross). Symmetric and asymmetric fusions of *S. tuberosum* with *S. bulbocastanum* and *S. pinnatisectum* were tested to blight resistance. Table 2 shows an example of a to low level of resistance. Our results with different accessions of *S. pinnatisectum* were generally in contrast to expectation.

(BAZ--3114)

In Zusammenarbeit mit: Schilde-Rentschler, Univ. Tübingen; Schöber-Butin, Stachewicz, BBA, Braunschweig; Schüler, Genbank Groß Lüsewitz, IPK Gatersleben; Wegener, BAZ, Inst. f. Streßphy. u. Rohstoffqu., Groß Lüsewitz

085

Tab 2: Kraut- und Braunfäule-Resistenz von 50 symmetrischen Fusionaten von diploidem *S. pinnatisectum* und dihaploidem *S. tuberosum* (Kombination 7278), erzeugt von L. Schilde-Rentschler, Univ. Tübingen

|             | Krautfäule-Resistenz |      |                 | Braunfäule-Resistenz |      |                       |      |              |
|-------------|----------------------|------|-----------------|----------------------|------|-----------------------|------|--------------|
|             | in vitro             |      | Einzelblatttest | Feldtest             |      | Kultur im Gewächshaus |      | Scheibentest |
|             | 1993                 | 1994 | 1995            | 1994                 | 1995 | 1993                  | 1994 | 1994         |
| x Fusionate | 3,6                  | 3,7  | 4,1             | 3,9                  | 4,6  | 5,9                   | 4,8  | 6,4          |
| x Partner   | 4,7                  | 4,6  | 4,4             | 3,6                  | 4,3  | 6,6                   | 5,6  | 5,8          |

### 1.3. Erstellung von Basismaterial mit kombinierter Mehltau- und Braunrostresistenz bei Roggen Selection of rye resistant to leaf rust and powdery mildew

Roux, S. R.

*Erhöhung der Ertragsicherheit und Verminderung des Fungizideinsatzes beim Roggen (Secale) durch Kombination von Mehltau- und Braunrostresistenz. Populationszüchtung unter natürlichen Infektionsbedingungen. Fixierung der Resistenzen durch partielle Inzuchtung.*

*Increase of yield stability and decrease of fungicide application in rye cultivation by means of combined resistances against leaf rust and powdery mildew. Population breeding under natural infection conditions. Fixation of the resistances via partial inbreeding.*

Die Kombination von Mehltau- und Braunrostresistenz soll zur Senkung des Fungizideinsatzes und zur Steigerung der Ertragsicherheit bei Roggen führen. Dafür wurde in einer über mehrere Selektionszyklen entwickelten mehltauresistenten Subpopulation aus dem Formenkreis "Gülzower Kurzstrohroggen" auf Braunrostresistenz selektiert. Hierbei konnte unter einem hohen natürlichen Infektionsdruck eine große Anzahl Einzelpflanzen ausgelesen werden, die sowohl ein beachtliches Resistenzniveau gegenüber Mehltau als auch eine nur geringfügige Anfälligkeit gegenüber Braunrost aufwiesen. Zur Erhaltung resistenter Genotypen und zur langfristig angestrebten Fixierung der Resistenzgene wurden Paarkreuzungen und Selbstungen erstellt. Letztere konnten aufgrund der in diesem Material in einer sehr geringen Frequenz auftretenden Selbstfertilität nur vereinzelt gebildet werden. Als neues Selektionsziel wurde im Berichtszeitraum die Resistenz gegen Schwarzrost aufgenommen. Hierbei konnten mehrere Einzelpflanzen selektiert werden, die bei einem hohen natürlichen Infektionsdruck weder einen Befall mit Mehltau und Braunrost noch mit Schwarzrost zeigten. Zur Integration der Resistenzen in züchterisch relevantes Material und der damit verbundenen Bildung resistenter, selbstfertiler Inzuchtlinien sollen diese Einzelpflanzennachkommen im kommenden Jahr in Testkreuzungen mit einer anfälligen Inzuchtlinie aus aktuellem Zuchtmaterial eingesetzt werden.

Die bereits begonnene Entwicklung von mehltau- und braunrostresistenten Inzuchtlinien und deren Einsatz in Testkreuzungen zur Überprüfung ihrer Eignung zur Restauration cytoplasmatischer männlicher Sterilität wurde fortgesetzt.

Abstract:

The combination of resistances against leaf rust and powdery mildew aims at an increase of yield stability and a decrease of fungicide application in rye cultivation. A subpopulation belonging to the form „Gülzower Semidwarf Rye“ was developed by means of selection for resistance against powdery mildew over several years. In this population a large number of plants could be selected which showed resistance against leaf rust under natural

infection conditions. Some plants exhibited an additional resistance against stem rust.

(BAZ-3117)

086

### 1.4. Erstellung von Basismaterial bei Hafer mit Resistenz gegen Echten Mehltau und Gerstengelverzweigungsvirus

Development of new oat germplasm with resistance against powdery mildew and barley yellow dwarf virus

Herrmann, M.

*Bereitstellung von Saathaferbasismaterial mit dauerhafter Resistenz gegen Echten Mehltau und Resistenz bzw. Toleranz gegen Gerstengelverzweigungsvirus (BYDV). 1. Schritt: Screenings an Wildhafermaterial und Saathaferfortimenten auf Resistenz gegen Echten Mehltau und BYDV. 2. Schritt: Kreuzungen zur Übertragung der gefundenen Resistenzgene auf Hochzuchtsorten und Untersuchung der Vererbungsweise.*

*Development of oat germplasm with resistance to powdery mildew and tolerance to barley yellow dwarf virus (BYDV). 1st. step: Screening of Avena collections for resistances. 2nd. step: Analysis of the inheritances of the resistances and backcrosses to transfer the resistance genes into high yielding cultivars.*

F<sub>4</sub>-Teilrasmche aus Kreuzungen mit mehltauresistenten *Avena sativa* - Linien (APR 122 und APR 166; Resistenz aus *A. pilosa*) wurden hinsichtlich Ertrag, Mehltaubefall, Halmbruch und Tausendkornmasse geprüft.

F<sub>4</sub>-Nachkommen unvollständig resistenter BC<sub>2</sub>F<sub>3</sub>-Einzelpflanzen der Kreuzung (*A. magna* x *A. macrostachya*) x *A. sativa* erwiesen sich als mittelresistent bis anfällig mit vorwiegend intermediärem Habitus. Die BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub> - Generation aus der Kreuzung (*A. prostrata* x *A. longiglumis*) x *A. sativa* war vollständig resistent gegenüber Hafermehltau.

Nach zweijähriger Prüfung der BYDV-PAV I-Toleranz verschiedener Saathaferlinien zeigen sich reproduzierbare signifikante Unterschiede.

Abstract:

F<sub>4</sub>-bulks derived from crosses with powdery mildew resistant lines APR 122 and 166 have been examined in drillplots. Yield, resistance to powdery mildew and *Sep-toria* leaf spot, and thousand kernel weight have been recorded. Single panicles have been selected from the most promising bulks to develop lines with resistance to powdery mildew.

To transmit new resistance genes into high yielding cultivars backcross programmes have been continued and/or started. BC<sub>2</sub>F<sub>4</sub>-progenies derived from the crosses (*A. magna* x *A. macrostachya*) x *A. sativa* and (*A. prostrata* x *A. longiglumis*) x *A. sativa* have been proved to be resistant to powdery mildew.

After two years of investigating the tolerance to BYDV-PAVI of several *A. sativa* lines and cultivars, significant and reproducible differences have been found.

(BAZ-3118)

In Zusammenarbeit mit: Habekuß, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben  
087

- 1.5. Schaffung von Basismaterial bei Wintertriticale mit hoher Kornqualität, hoher Standfestigkeit und Eignung als nachwachsender Rohstoff**  
**Development of new germplasm in winter triticale with high grain quality, high lodging resistance and suitability for non-food utilization**  
 Herrmann, M.

*Entwicklung von Triticale-Linien mit spezifischen Eigenschaften (Standfestigkeit, Auswuchsresistenz, Krankheitsresistenz, Eignung als nachwachsender Rohstoff) und damit entsprechender Eignung als Basismaterial.*

1. Schritt: Evaluierung des vorhandenen Materials und Trennung entsprechend der verschiedenen Zielrichtungen

2. Schritt: Erweiterung der genetischen Variabilität für die einzelnen Zielrichtungen durch intra- und interspezifische Kreuzungen

Development of Triticale germplasm with specific properties (resistance to lodging, sprouting, diseases; non-food suitability)

In einem Drillversuch wurden die 50 aussichtsreichsten Triticale-Zuchtstämme aus dem Jahr 1994 hinsichtlich Ertragskomponenten und Ertrag, Datum Ährenschieben, Krankheitsbefall, Standfestigkeit, Bestandeshöhe, Hektolitergewicht, Auswuchs unter Provokation und Proteingehalt ermittelt. In allen erfaßten Merkmalen zeigten sich signifikante Unterschiede. Besonders auffällig waren, bedingt durch das üppige Wachstum, die Unterschiede in der Standfestigkeit. Im Ertrag lagen die besten Stämme auf dem Niveau der besten Sorten des EUCARPIA Triticale Yield Nursery. Zwischen den Merkmalen 'Frühzeitigkeit' und 'Auswuchsresistenz' sowie 'Ertrag' und 'Proteingehalt' ergaben sich signifikante negative Korrelationen, wobei mehrere Abweicher von diesen Zusammenhängen Selektionsmöglichkeiten boten.

Abstract:

50 secondary hexaploid Triticale lines have been seeded in drillplots and yield, yield components, date of heading, diseases, lodging, plant height, testweight, sprouting after provocation and protein content have been measured. In all recorded features significant differences occurred. The most yielding lines reached the best ones of the EUCARPIA Triticale Yield Nursery.

(BAZ-3119)

088

- 1.9. Auswahl züchterisch wertvoller dihaploider Kartoffelgenotypen für die somatische Hybridisierung und Analyse von Fusionshybriden**  
**Selection of dihaploid potato genotypes for the somatic hybridization and analysis of fusion hybrids**

Tiemann, H.

*Wertvolle Resistenz-, Qualitäts- und Ertragsmerkmale sollen über die somatische Hybridisierung in neuen Genotypen vereinigt werden. Hergestellte somatische Hybriden werden unter Gewächshaus- und Freilandbedingungen kultiviert. Sie werden auf Resistenz gegenüber Kraut- und Knollenfäule-, Nematoden- und Virusresistenz, Produktqualität, Ertrag und andere agronomisch bedeutsamen Eigenschaften untersucht.*

*Valuable traits of resistance, quality and yield are to combine in new genotypes via somatic hybridization. Produced somatic hybrids will be cultivated under greenhouse and field conditions. They will be tested for resistance to *Phytophthora infestans*, nematodes and viruses, product quality, yield and other agronomic important traits.*

Zur Schaffung von definiertem Ausgangsmaterial für die somatische Hybridisierung wurden gezielt weitere 17 dihaploide Genotypen ausgewählt und in das In vitro-Depot übernommen. Diese 2x-Elterngenotypen mit unterschiedlichen Resistenz-, Qualitäts- und Ertragseigenschaften verfügen über unterschiedliche Abstammung und sind Primär-, Inter- und Hybridihaploiden zuzuordnen. Aus dem längerfristig angelegten Fusionsprogramm wurden 1995 weitere 239 symmetrische Hybriden aus 17 Kombinationen im Gewächshaus zur Knollenproduktion angebaut und ersten phänotypischen Bonituren unterzogen. Die 1994 im Gewächshaus vermehrten 109 identifizierten somatischen Hybriden standen 1995 in Freilandversuchen. Zwischen den Fusionshybriden im Feld war eine hohe Variabilität zu beobachten. Es wurden alle Genotypen phänotypisch evaluiert und nach der Abreife geerntet. Die Auswertungsarbeiten der Feldversuche zeigen, daß der Knollenertrag der Hybridkartoffeln stark von den fusionierten Elterngenotypen und deren chromosomaler Zusammensetzung beeinflußt wird. Auch erste Resistenz- und Qualitätsprüfungen unter Labor- und Gewächshausbedingungen lassen deutliche Unterschiede im Resistenz- und Qualitätsniveau erkennen. Die Nutzbarmachung von Fusionaten aus dihaploiden *Solanum tuberosum* mit *S. bulbocastanum* bzw. *S. pinnatisectum* aus Tübingen wurde durch ein umfangreiches Rückkreuzungsprogramm fortgesetzt. In Nachkommenschaften verschiedener Abstammung war im Freilandanbau eine beachtliche Variabilität zu erkennen, so daß die Grundlage für weitere Selektionsarbeiten gegeben ist. Im Mittel aller Versuche zeigten die Nachkommenschaften aus *S. bulbocastanum*-Kreuzungen günstigere Selektionschancen als aus *S. pinnatisectum*.

**Abstract:**

For the creation of defined basis material further 17 dihaploid genotypes were choiced for the somatic hybridization. These 2x parental genotypes with different traits of resistance, quality and yield posses different descents being primary-, inter- and hybriddihaploids. In the year 1995 further 239 somatic hybrids of 17 combinations were grown in the greenhouse to produce tubers. Somatic hybrids which were grown under greenhouse conditions in the year 1994 were planted in field experiments in 1995. Between the somatic hybrids in the field a high variability was observed. All genotypes were phenotypically evaluated and then harvested. Their yield is depended from the parental genotypes and the number of chromosomes. The best results were obtained in pure 48 chromosomal genotypes. Utilization of somatic hybrids from dihaploid *Solanum tuberosum* with *Solanum bulbocastanum* and *Solanum pinnatisectum*, respectively, from Tübingen were continued by an extensive backcross program. The mean of all experiments indicated that the progenies of crosses with *S. bulbocastanum* have a better potency for selection in comparison to *S. pinnatisectum*. (BAZ-3101)

In Zusammenarbeit mit: Schilde-Rentschler, Univ. Tübingen; Gavrilenko, Vavilov-Institut, St. Petersburg, Rußland 089

**1.10. Erstellung von Basismaterial mit hoher Kraut- und Knollenfäule-, Nematoden- und Virusresistenz sowie Produktqualität in Form von 24chromosomigen Kartoffeln.**

**Breeding of basic material with product quality and high resistance to *Phytophthora infestans*, nematodes and viruses in 24-chromosome potatoes**

Tiemann, H.

Je nach Abstammung zeigen die primären Dihaploiden im Knollenertrag, in der Speisequalität, der relativen Resistenz und anderen wichtigen Eigenschaften genetisch eine unterschiedlich stark ausgeprägte Variabilität. Nachteilig wirkt sich bei Dihaploiden oft eine geringe Blühintensität und Pollenfertilität aus. Erstellung von Primär-, Inter- und Hybriddihaploiden zur Nutzung der disomen Vererbung in der Kartoffelforschung. Dihaploidisierung genetisch unterschiedlich tetraploiden Ausgangsmaterials. Kombination agronomisch bedeutender Merkmale. Rückführung auf die 48chromosomige Stufe.

According to the descent the primary dihaploids show different high variation in yield, table quality, relative resistance and other important characters. The less blossom intensity and pollen fertility of dihaploids is often disadvantageous.

Bei der Erstellung weiterer 24chromosomiger Kartoffeln stand die Erschließung neuer Resistenzquellen und deren Nutzbarmachung in neuen Genkombinationen im Vordergrund der Forschungsaktivitäten. Die dihaploiden Genotypen wurden erfolgreich mit den Arten *Solanum*

*vernei*, *S. brachycarpum*, *S. sparsipilum*, *S. famatinae*, *S. spegazzinii*, *S. raphanifolium*, *S. berthaultii* und *S. oplocense* gekreuzt. Ziel ist die Herstellung resistenten Basismaterials mit zunächst einzelnen, dann kombinierten Resistenzen gegen Pilze und Bakterien als Ausgangsmaterial für die Sortenzüchtung. Parallel dazu wird versucht, die Qualitätsparameter zu verbessern. Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Primär-, Inter- und Hybriddihaploiden gegen den Erreger der Naßfäule ergaben signifikante Unterschiede im Anfälligkeitsgrad. Eine Verletzung der Lentizellen mittels Nadelstichen und anschließender Feuchte-Inkubation führte zu reproduzierbaren Aussagen über die Lentizellenbelastung mit *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*-Keimen. Im Rahmen der Produktqualität wurden die Gekochtvorfärbung sowie Chips- und Pommes frites-Eignung analysiert. Um Keimhemmungsmittel einzusparen, wurde die Chips- und Pommes frites-Qualität vergleichend bei 4 °C- und 8 °C-Lagerung untersucht. Es konnten weitere 24chromosomige Genotypen ermittelt werden, die nach 7monatiger Kallagerung noch beachtliche Qualitätsparameter aufwiesen. Je nach Abstammung zeigten die primären Dihaploiden im Knollenertrag, in der Speisequalität, relativen Virusresistenz und anderen Eigenschaften eine unterschiedlich stark ausgeprägte Variabilität. Nur die besten Genotypen wurden für weitere Kreuzungen verwendet. Nachteilig wirkt sich bei Dihaploiden oft eine geringe Blühintensität und Pollenfertilität aus. Für den weiteren Zuchtaufbau wurden 460 2x-Genotypen aus Dihaploid-Kombinationen selektiert.

**Abstract:**

The aims are to combine pest and disease resistance with high yield, attractive tuber appearance and product quality. Therefore the primary and interdihaploids were also crossed with the species *Solanum vernei*, *S. brachycarpum*, *S. sparsipilum*, *S. famatinae*, *S. spegazzinii*, *S. raphanifolium*, *S. berthaultii* and *S. oplocense*. According to the descent the progenies show different high variation in yield, all quality and resistance traits. The use of dihaploids in further potato breeding is often impeded by their decreased intensity of flowering and pollen-fertility. The best results were found by the inter- and hybridhaploids. The hybriddihaploid families had also the highest pollenfertility. The yield varied according to the genotyp from 17 to 80 per cent against standard 'Adretta'. Therefore, the final step of a breeding programme at the dihaploid level is to return to the tetraploid level.

(BAZ-3102)

In Zusammenarbeit mit: Proll, Zielke, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben; Stachewicz, BBA, Kleinmachnow; Schüler, Genbank Groß Lüsewitz, IPK Gatersleben

090

### 1.11. Untersuchungen zur Nutzung von Kombinations-Heterosiseffekten durch Retetraploidisierung dihaploider Kartoffeln

#### Investigations on the utilization of combined heterosis effects by retetraploidization of dihaploid potatoes

Tiemann, H.

*Obwohl bei Interdihaploiden das Ertragsniveau ansteigt, erreichen nach bisher vorliegenden Ergebnissen dihaploide Genotypen nicht die Ertragsleistung ihrer tetraploiden Elternformen. Es ist daher auf einer bestimmten Stufe der Dihaploidiezüchtung die Rückkehr zur 48-chromosomigen Stufe notwendig. Sie erfolgt über die mitotische und meiotische Retetraploidisierung. Erstellung von meiotischen Hybriden zur Nutzung des Heterosiseffektes in der Kartoffelzüchtung. Retetraploidisierung züchterisch wertvoller dihaploider Genotypen. Test auf Resistenz-, Qualitäts- und Ertragsseigenschaften.*

*Though the yield level increased in the interdihaploids, dihaploid genotypes did not exceed the tetraploid parents. Therefore, on a certain level of dihaploid breeding, returning to the 48-chromosome level is necessary. It is carried out by mitotic and meiotic retetraploidization.*

Zur gezielten Nutzung des Heterosiseffektes bei Kartoffeln wurde u.a. die meiotische Retetraploidisierung wertvoller dihaploider Kartoffeln fortgesetzt. Es wurden unreduzierte Eizellen (diplogynoiden Gameten) und unreduzierter Pollen (diplandroiden Gameten) genutzt. Im Vergleich zu  $2x \cdot 4x$  bzw.  $4x \cdot 2x$ -Kreuzungen ist der Beeren- und Samenansatz bei  $2x \cdot 2x$ -Kreuzungen noch wesentlich geringer. Da Nachkommen aus Kreuzungseltern mit ps-(parallel spindles)-Mechanismus besonders wertvoll sind, wurden umfangreiche Testkreuzungen durchgeführt. Der Anteil unreduzierter Gameten konnte bei Anbau der dihaploiden Elternklone in Klimakammern unter kontrollierten Temperaturbedingungen im Vergleich zum Freilandanbau signifikant erhöht werden. Als tetraploide Elternklone wurden solche Sorten bzw. Stämme ausgewählt, die durch ihre genetische Konstitution noch fehlende Merkmale einbringen können. Erfolgversprechende Nachkommen konnten auch aus Kreuzungen meiotischer Tetraploider untereinander bzw. mit traditionellen Zuchtklonen selektiert werden. Im Mittel der Untersuchungen waren sowohl bei diplogynoiden als auch diplandroiden Tetraploiden Heterosiseffekte vorhanden. So zeigte sich im Ertrag je nach Genotyp zum Standortmittel eine Variation von 85 bis 150 %. Aus dem Sämlingsanbau 1995 wurden 479 meiotische Genotypen selektiert, aus dem Sämlingsnachbau 449 Einzelklone. Von den 1994 geernteten 232 Einzelklonen konnten 1995 171 A-Stämme analysiert werden. Aus ihnen gehen nach der Resistenz-, Qualitäts- und Ertragsanalyse die B-Stämme des Jahres 1996 hervor.

#### Abstract:

Meiotic polyploids were produced by  $2x \cdot 4x$ ,  $4x \cdot 2x$  and  $2x \cdot 2x$  crossings. The presence of unreduced gametes in dihaploid genotypes facilitates transfer of valuable traits from  $2x$  to  $4x$  valence level. All parents were screened for  $2n$  pollen. The output of diplogametic tetraploids however is very small. We reached only 0,5 seed on an average of all combinations per pollinated blossom. The part of unreduced gametes was significantly increased when the dihaploid parental clones are grown at the climate light chamber in comparison with field conditions. The efficiency of crossings was increased by the application of luminescence microscopy investigations of pollen tube growth in vivo. Preselected diplogynoid and diplandroid tetraploids were crossed again with retetraploidized and traditional breeding clones. The mean yields of the meiotic tetraploids were not significantly different from those of their hybrids in further crossbred generations. From the submitted results it can be derived, that the small yield potential of dihaploid level increases again by meiotic retetraploidization on the level of the tetraploid parental forms and more.

(BAZ-3103)

In Zusammenarbeit mit: Schöber-Butin, Niepold, BBA, Braunschweig; Stachewicz, BBA, Kleinmachnow 091

## 2. Biotechnologie Biotechnology

### 2.1. Etablierung einer effektiven Fusionsmethode für Kartoffelgenotypen und Anpassung der Fusions-technik an ein genetisch breites Material Introduction of an effective fusion method for potato genotypes and adaptation of the fusion technique to a genetically wide material Sonntag, K.

*Erstellung von Fusionshybriden mit Resistenz- und Qualitätseigenschaften zur Schaffung von Basismaterial für die Züchtung. Herstellung von Protoplasten aus Dihaploiden und Feststellung der Regenerationsfähigkeit. Fusionsexperimente mit regenerationsfähigen Dihaploiden. Regeneration der Fusionsprodukte.*

*Production of fusion hybrids with important traits of resistance and quality to efficiently produce basis material for breeding. Production of protoplasts from dihaploid donor clones and establishment of the regeneration rate. Fusion experiments of dihaploids with good regeneration. Regeneration of these fusion products to plants.*

Ausgehend von Protoplastenfusionen dihaploider Kartoffelgenotypen wird in Kombination mit klassischen Züchtungsverfahren die Erstellung von wertvollem Basismaterial für die Kartoffelzüchtung (*Solanum*) durchgeführt. Aufbauende Versuche im Berichtsjahr beinhalteten die Erweiterung des Genotypenspektrums und die

Testung verschiedener Fusionsbedingungen. Obwohl die Elektrofusion allgemein als eine gut reproduzierbare Methode beschrieben ist, unterliegt die Fusionseffizienz in Abhängigkeit vom Genotyp und der Genotypkombination erheblichen Schwankungen.

Durch Variation der physikalischen Parameter wurde Einfluß auf die Kettenbildung und den Fusionsprozeß genommen. Der sogenannte Cell-to-Cell-Kontakt wurde induziert in einem AC-Feld mit 20 V und 800...1000 KHz. Die Fusion wurde erreicht durch Anwendung von 2 Pulsen (125...175 V) für eine Dauer von 15 µs. Nach mikroskopischer Beobachtung konnte visuell eine Fusionsrate von durchschnittlich 45 % ermittelt werden. Der in den Vorjahren nachgewiesene genotypabhängige Einfluß auf den Fusionserfolg wurde erneut bestätigt. In Abhängigkeit von den Bedingungen während des Fusionsprozesses und den Genotypkombinationen schwankte die Fusionseffizienz von 0...100 % und damit auch die Hybridausbeute. Im Mittel aller geprüften Fusionskombinationen wurde eine Hybridausbeute von 44% erreicht.

In 72 geprüften Genotypkombinationen kam es in zahlreichen Fällen nach der Fusion durch das Ansammeln phenolischer Verbindungen zu einer Verzögerung der Kallusentwicklung. Obwohl in der Mehrzahl der Kombinationen mehr als 100 Kalli für die Regenerationsversuche auf unterschiedlichen Medien zur Verfügung standen, lag die Regenerationsrate nur bei 0,9 %. Deutlich zeigte sich, daß die Regeneration auf bestimmte Genotypen zurückzuführen war. Vorausgegangene Versuche mit 25 Kombinationen lieferten eine Regenerationsrate von 6,9 %.

Der Nachweis somatischer Hybriden wurde im Berichtszeitraum für 204 Regeneratlinien erbracht, das sind 44 %, bezogen auf die Zahl der untersuchten Regeneratpflanzen. Dabei konnte festgestellt werden, daß unter den Regeneratpflanzen ein relativ hoher Anteil höherploider und aneuploider Pflanzen (insgesamt ca. 50 %) auftrat, was möglicherweise auf spontane Fusionen oder auf Mehrfachfusionen im elektrischen Feld zurückzuführen ist.

Die aus der Fusion stammenden Hybridlinien wurden in vitro vermehrt und als bewurzelte Pflanzen ins Gewächshaus zur Knollenerzeugung überführt. Beim nachfolgenden Anbau im Freiland zeigten erste phänotypische Bonituren intermediären Charakter und spezifische Anomalien in der Blattentwicklung. Die weiteren Forschungsarbeiten zur somatischen Hybridisierung werden an neu etablierten Genotypen fortgesetzt.

#### Abstract:

Leaf mesophyll protoplasts from different dihaploid potato breeding clones were used for isolation, culture and regeneration. These lines were electrofused. Dielectrophoresis was induced by an AC field of 20 Vcm<sup>-1</sup> and 0,8...1 MHz. Fusion was effected by two DC pulses, each of 15 µs duration. Different shoot culture media were required; only 0,9 and 6,9 % of protoplast-derived calli regenerated shoots depended upon the cultivar genotype and genotype combination. In these intraspecific fusion

experiments the results indicate that genotyp and combining factor strongly influence hybrid formation. 204 somatic hybrids, i.e. 44 % of the totally investigated plants, were obtained.

For further investigations the hybrid plants were successfully transferred in soil. The first results show specific anomaly in the leaf development and intermediate character.

(BAZ-3107)

In Zusammenarbeit mit: Wenzel, BAZ, Inst. f. Resistenzgenetik, Grünbach; Schilde-Rentschler, Univ. Tübingen; Gavrilenko, Vavilow-Institut, St. Petersburg, Rußland

092

## 2.2. Nutzung der Embryo-, Ovula-, Mikrosporen- und Pollenkultur zur Überwindung von Art- und Gattungsbarrieren bei *Solanum* und *Brassica* Utilization of embryo, ovule, microspore and pollen culture to overcome barriers of incompatibility in *Solanum* and *Brassica*

Thieme, R.; Sonntag, K.

*Anwendung von Embryo-, Ovula-, Mikrosporen- und Pollenkultur zur Erzeugung von Basismaterial mit hohen Resistenz- und Qualitätseigenschaften für die Züchtung. Durchführung von Art- und Gattungskreuzungen bei Solanum und Brassica zur Überwindung von Barrieren.*

*Application of embryo, ovule, microspore and pollen culture for production of basis material with important traits of disease resistance and quality for the breeding. Investigations to overcome barriers of incompatibility in Solanum and Brassica.*

Es steht eine Methode zum 'embryo rescue' zur Verfügung, bei der unreife Embryonen nach Kreuzung züchterisch relevanter Problemkombinationen in vitro kultiviert werden können. Die Methode wurde bei *Solanum* und *Brassica* angewandt.

Für die Untersuchungen zur Erzeugung von Basismaterial mit veränderten Resistenz- und Qualitätseigenschaften ist die Nutzung von haploidem bzw. homozygotem Ausgangsmaterial von großer Bedeutung. Es wurden von 8 ausgewählten Genotypen von *Brassica napus* über Mikrosporenkultur Embryos und haploide Pflanzen erzeugt. Zur Induktion der Embryogenese auf NLN 82-Medium (LICHTER 1982) war eine Temperaturbehandlung von 30 °C für 2...4 Tage notwendig. Dabei zeigte sich die allgemein bekannte Genotypabhängigkeit in der Embryobildung. Auch jahreszeitliche Einflüsse konnten nachgewiesen werden. Im Ergebnis der flowcytophotometrischen Messungen waren von 91 untersuchten Regeneratpflanzen eines Genotyps 80 % haploid und 20 % diploid. Weiterführende Untersuchungen beinhalten die Anwendung effektiver Methoden zur Diploidisierung.

#### Abstract:

A method for 'embryo rescue' was established to cultivate immature embryos after crossing. Method was used in *Solanum* and *Brassica*. Isolated microspores from 8 va-

rious genotypes of *Brassica napus* were cultivated on NLN 82 medium (LICHTER 1982). Embryos and plantlets were obtained on dependence from genotype. A 30 °C heat treatment for two to four days was necessary to induce embryogenesis. Analysis of ploidy level through flow cytometry indicated that 80 % haploids were present.

(BAZ-3104)

093

### 2.3. Untersuchungen zur Entwicklung und Anwendung von effektiven Methoden der Identifizierung von Kartoffelhybriden unter Nutzung genotypischer Pflanzenproteine und der RAPD-PCR-Marker

**Studies dealing with the development and utilization of effective methods for identification of potato hybrids by using genotype-specific plant proteins, utilization of RAPD-PCR-markers.**

Thieme, R.

*Frühe Identifizierung und Selektion der Hybriden nach Elektrofusion von Protoplasten dihaploider Kartoffelgenotypen unter Nutzung von genotypspezifischen pflanzlichen Proteinen und Anwendung von RAPD-PCR-Markern. Nachweis des Hybridcharacters der Regenerate erfolgt mit Hilfe der isoelektrischen Focussierung und Nachweis der Peroxidasen und Esterasen. Zur Valenzstufenbestimmung der Regenerate sowie der Selektion von tetraploiden, somatischen Hybriden wird die Durchflußzytometrie eingesetzt.*

*Early identification and selection of interdihaploid somatic hybrids by protoplast fusion using genotype-specific plant proteins and RAPD-PCR markers. Hybrid nature of regenerants is confirmed by isoelectric focusing of peroxidases and esterases isoenzymes. Flow cytometric measurements are carried out for determination of ploidy level of regenerants and for selection of the tetraploid somatic hybrids.*

Zur frühen Identifizierung und Selektion somatischer Hybriden der Kartoffel (*Solanum*) hat sich folgende methodische und zeitliche Vorgehensweise als effektiv erwiesen und wird daher routinemäßig angewandt:

#### 1. Valenzstufenbestimmung:

Die Einschätzung der Valenzstufe an den nach Protoplastenfusion und Kultivierung entstandenen Regeneraten wurde durch cytophotometrische Messungen vorgenommen. Nach Aufschluß der Blattproben und Anfärbung der Zellkerne wird der Gesamt-DNA-Gehalt gemessen und anhand von Histogrammen dargestellt. Aufgrund der Verwendung von Standardpflanzen und Ausgangseltern und der Position des Peaks im Vergleich zur Probe wird der Ploidiegrad ermittelt. Da für die Analyse lediglich 1 Blatt einer In-vitro-Regeneratpflanze erforderlich war, kann die Selektion von nicht fusionierten 24-chromosomigen, tetraploiden, mixoploiden sowie höherploiden Pflanzen in einem frühen Regenerationsstadium erfolgen. Im Mittel der verwendeten Genotypen zeigten 65 % der Regenerate die tetraploide Valenzstufe, die aus

Sicht der Erzeugung von Basismaterial die züchterisch verwertbarste Form darstellt. 10 % der Regeneratpflanzen waren diploid, 22 % hexa- und octoploid und 4 % wiesen Mixoploidie auf. In einigen Fällen, insbesondere bei Vorliegen von Aneuploidie, wurde die Chromosomenzählung an Wurzelspitzenzellen durchgeführt. Wurzelspitzen aus Gewächshausmaterial wurden nach Lagerung auf Eis mit Äthanolessigsäure fixiert, angefärbt und die Chromosomen an Quetschpräparaten gezählt. Vergleichende Untersuchungen zur genetischen Stabilität der somatischen Hybriden wurden durchgeführt.

#### 2. Hybridnachweis durch Isoenzymanalyse, RAPD-PCR-Technik:

Die isoelektrische Fokussierung und der Nachweis der Isoenzyme der Esterasen und Peroxidasen ergab im Berichtsjahr bei ca. 55 % der Genotypkombinationen aufgrund spezifischer Banden der Elternlinien einen problemlosen Nachweis des Hybridcharacters. Bei anderen Kombinationen wurden aufgrund fehlenden Polymorphismus weitere Identifizierungsmethoden gesucht. PCR-Techniken, die Teilsequenzen der genomischen DNA vielfältigen und nachweisen, wurden zur Hybridselektion getestet. Durch Einsatz von 10 Basenpaar-Primern sind sie nicht an die Kenntnis der DNA-Sequenz gebunden und bei vorhandener Ausrüstung einfach und schnell durchzuführen. 60 10er Primer der Fa. Operon wurden zur Analyse des Polymorphiegrades an den interessierenden Elternlinien eingesetzt.

Ansatzmenge und Qualität der Primer sowie Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurden überprüft. Neben dem üblichen Nachweis der Amplifikationsprodukte auf Agarosegelen und Ethidiumbromidfärbung kamen auch ultradünne Polyacrylamidgele und Silberfärbung zum Einsatz, wodurch die Sensibilität und damit die Auswahl der Banden deutlich erhöht wurde. Bei Verwendung beider Methoden gelang es, bei allen untersuchten Genotypkombinationen somatische Hybriden nachzuweisen.

#### 3. Phänotypische Merkmalsbestimmung:

Somatische Hybriden und Elternlinien wurden unter Gewächshaus- und Feldbedingungen verglichen. Die Einschätzung der morphologischen Merkmale wie Sproß, Blatt, Blüte und Knollen, erfolgte nach international gültigem Standardkatalog und bestätigte den Hybridcharakter der Pflanzen. Beziehungen zwischen Ploidiegehalt und morphologischen Merkmalen wurden untersucht.

#### Abstract:

For early identification and selection of interdihaploid somatic hybrids of potato following method was used.

#### 1. Estimation of ploidy level:

Flow cytometric measurements were carried out for determination of ploidy level on plant regenerants after electrofusion of protoplasts. 65 % of tested regenerants showed tetraploid level, 10 % were dihaploid, 22 % hexa- and octoploid, and 3 % mixoploid. In case of aneuploidy chromosome number were counted in root tip cells.

2. Proof of hybrid nature via isoenzym analysis and RAPD-technique hybrid nature of 55 % regenerants was

confirmed by isoelectric focussing of peroxidases and esterases isoenzymes. For RAP-PCR analysis 60 primers were used and resulted in the selective amplification of DNA fragments which were polymorphic between dihaploid parental lines. PCR-amount, quality of primers and reproducibility of results were tested. With both methods in all genotype combinations the proof of somatic hybrids was successful.

### 3. Estimation of phenotypic traits:

Comparison of morphologic characters in somatic hybrids and parental lines under greenhouse and field conditions confirmed the hybrid nature of the plants. Relations between ploidy level and phenotypic characters were investigated.

(BAZ-3104)

In Zusammenarbeit mit: Seddig, BAZ, Inst. f. Streßphysiologie, Groß Lüsewitz; Gavrilenko, Vavilov-Institut, St. Petersburg, Rußland

094

# Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

Institute for Breeding Methods of Crop Plants

Groß Lüsewitz

Das Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen arbeitet an der Optimierung, Anpassung und Integration klassischer, molekularbiologischer und biotechnischer Methoden für eine effiziente Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Im Vordergrund der Arbeiten stehen gegenwärtig die Bewertung und Vererbungsanalyse genetischer Ressourcen für züchterisch wichtige Merkmale unter besonderer Berücksichtigung von Resistenzen, die Erarbeitung markergestützter Selektionsmethoden für solche Merkmale, die Entwicklung und Optimierung praxisfähiger Marker-techniken, die Erschließung und Überprüfung von Hybridmechanismen bei ausgewählten Arten sowie die Anwendung gen- und biotechnischer Verfahren zur gezielten Modifikation züchterisch bedeutsamer Eigenschaften.

Research of the Institute for Breeding Methods of Crop Plants is dedicated to optimizing, adapting and integrating classical, molecular and biotechnological methods for the efficient breeding of crops. The investigations are currently focussed on the evaluation and genetic analysis of genetic resources for agronomically important traits, especially disease resistance, set-up of marker-assisted selection methods for such traits, adaptation of marker techniques for their cost- and labour-efficient use in practical plant breeding, exploitation and adaptation of outbreeding mechanisms for hybrid seed production, and use of biotechnological methods for the straightforward modification of agronomical traits.

## 1. Genetische Ressourcen Genetic Resources

### 1.1 Evaluierung und Analyse genetischer Ressourcen für Braunrostresistenz bei Roggen Evaluation and analysis of genetic resources for leaf rust resistance in winter rye Scholz, M.; Wehling, P.

*Roggenausgangsmaterial wird hinsichtlich der Resistenzen gegenüber Mehltau und Braunrost genetisch analysiert. Die chromosomale Markierung und Lokalisierung der identifizierten Majorgene erfolgt mit Hilfe von Trisomen sowie Isoenzym- und molekularen Markern.*

*Resistances to powdery mildew and leaf rust in basic material of rye will be analyzed genetically. The genes controlling these characters will be located on rye chromosomes by use of trisomics as well as isozyme and DNA markers.*

Von 21 Herkünften aus Deutschland, der ehemaligen Sowjetunion und der CSSR, aus Polen, Ungarn, den USA und Kanada wurden vorselektierte Roggen-Inzuchtlinien hinsichtlich ihrer Braunrostresistenz charakterisiert. Neben der Altersresistenz, die in Parzellenversuchen im Freiland bewertet wurde, erfolgten durch Blattstücken- und Keimpflanzenentests auch Untersuchungen zur Keimlingsresistenz. Um das zu evaluierende Resistenzspektrum nicht von vornherein einzuengen, wurden in den ersten Resistenzprüfungen Braunrostgemische einge-

setzt. Für die Einschätzung der rassenspezifischen Resistenz wurden die Pflanzen von drei Linien außerdem mit 39 Einzelpustelisolaten (EPI) von neun Herkünften inokuliert.

Hinsichtlich der Keimlingsresistenz wurden 11 Linien mit befallsfreien Einzelpflanzen ausgelesen. Davon erwiesen sich vier Linien als homozygot resistent. In Keimpflanzenprüfungen mit 39 EPI wurde eine Linie mit ausgeprägter rassenspezifischer Resistenz für das zukünftige Differentialsortiment ausgewählt. Hinweise auf eine rassenspezifische Braunrostresistenz liegen auch für zwei weitere Linien vor. Gegenwärtig wird ein Inzuchtliniensortiment mit ausgewählten EPI geprüft.

In Feldprüfungen unterschieden sich die Linien hinsichtlich ihres Resistenzverhaltens deutlich voneinander. Das betraf sowohl den Zeitpunkt des Braunrostbefalls als auch die Homozygotie. Abbildung 1 zeigt, daß die Nachkommenschaft einzelner Linien auch zwei bis drei Wochen nach dem Auftreten erster Uredosporenlager überwiegend befallsfrei blieb (Abb. 1, Linien 2 und 3), während andere Linien eine Aufspaltung in befallene und befallsfreie Einzelpflanzen zeigten (Abb. 1, Linie 1). Von 17 Herkünften wurden Einzelpflanzen ausgelesen, die keinen Braunrostbefall aufwiesen. Insgesamt reagierten 14 Linien homozygot für das Merkmal 'Resistenz', wobei fünf Linien auch zusätzlich mehlauresistent sind. Symptome der partiellen Braunrostresistenz zeigen Linien von drei Herkünften.

Genetische Analysen zur Vererbung der Braunrostresistenz wurden an 16 F<sub>2</sub>- und F<sub>3</sub>-Nachkommenschaften

sowie einer Rückkreuzungsnachkommenschaft durchgeführt. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen, daß an der Ausprägung der Resistenz überwiegend ein bis zwei Gene beteiligt sind.

Die Genwirkung war dominant. Dagegen wurde bei drei weiteren Herkünften, bei denen erste Ergebnisse zur Vererbung der Keimlingsresistenz vorliegen, rezessive Genwirkungen festgestellt. Untersuchungen zur Altersresistenz erfolgen in der Feldprüfung 1996.

Mit Hilfe der Trisomenanalyse wurden zwei Resistenzgene chromosomal lokalisiert.

Für Vererbungs- und Kopplungsanalysen wurde F<sub>2</sub>-Saatgut von 14 Herkünften sowie Rückkreuzungssaatgut von 13 Herkünften erzeugt.

## 1.2 Erschließung genetischer Variabilität zur Verbesserung der Resistenz gegen *Puccinia coronata* bei *Lolium* ssp.

**Investigation of genetic variability for improving resistance to *Puccinia coronata* in *Lolium* species**  
Ruge, B.; Lellbach, H.;

*Durch ein umfangreiches Screening von Lolium ssp. sollen neue Resistenzquellen gegen den Kronenrost selektiert werden. Ziel des Projekts ist die Identifizierung von Resistenzgenen und ihre Kartierung mit Hilfe molekularer Marker.*

*To identify new genes for crown rust resistance a broad germplasm of Lolium ssp. is screened in vitro and in the field. Resistance genes will subsequently be mapped by means of molecular markers.*

Zur genetischen Analyse der Kronenrostresistenz (*Puccinia coronata*) bei *Lolium* ssp. und ihrer Nutzung für die Züchtung stehen Ökotypen, Herkünfte und Sorten zur Verfügung, die unter Freilandbedingungen auf ihre Reaktion gegenüber Kronenrostbefall geprüft werden. Eine weitere Selektion resistenter Genotypen aus verschiedenen Herkünften der Genbank Malchow erfolgte nach künstlicher Inokulation unter standardisier-

ten Bedingungen *in vitro*. Im Vordergrund der genetischen Analyse steht die Erzeugung homozygot anfälliger und homozygot resistenter Linien, deren Kreuzungsnachkommenschaften für die Vererbungsanalyse des Merkmals genutzt werden. Die Resistenzgene sollen anschließend mit molekularen Markern (Isoenzyme, RAPD, RFLP, STS) markiert werden. Es wurden jeweils 10 Pflanzen von insgesamt 350 Herkünften (*Lolium perenne*) in zweifacher Wiederholung geprüft. Davon zeigten 5 Herkünfte keinen Befall. Außerdem erfolgte die Auslese resistenter Genotypen aus Sorten, von denen Selbstungs- und Kreuzungsnachkommenschaften erzeugt wurden. Seit Herbst 1995 werden insgesamt 137 Selbstungsnachkommenschaften mit Hilfe von Isoenzymmarkern auf Reinheit überprüft.

### Abstract:

Genetic variability for resistance to *Puccinia coronata* is investigated using ecotypes, accessions and varieties of *Lolium* ssp. Resistance was studied under field conditions as well as *in vitro*. For genetic analysis, genotypes homozygous for resistance and susceptibility, respectively, are produced by pseudo-compatible selfing and are subsequently crossed. Genetic analysis as well as marker scre-

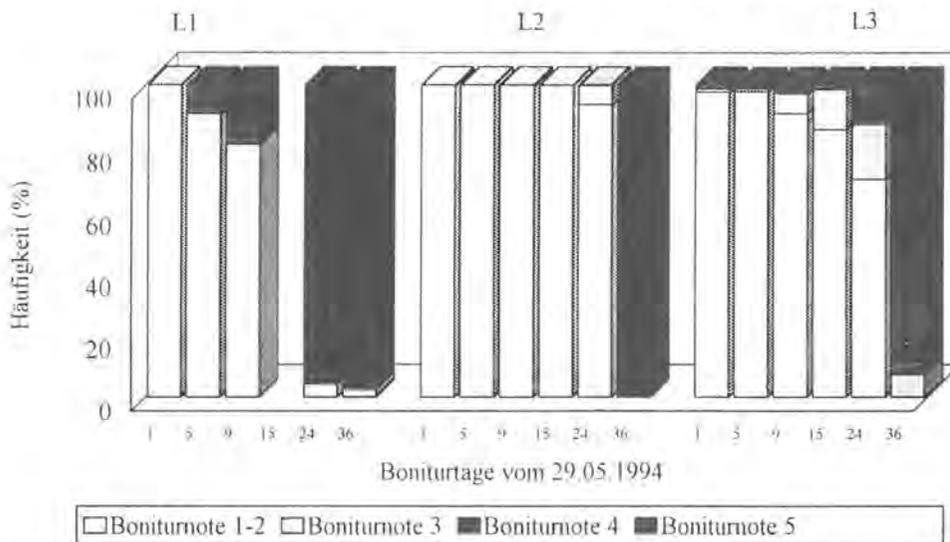


Abb. 1: Zeitlicher Verlauf des Braunrostbefalls von drei Roggen-Inzuchtlinien im Freiland (Linie 1; n=87, Linie 2; n=121; Linie 3; n=83)

### Abstract:

Rye inbred lines were screened for leaf rust resistance in seedlings and in adult plants. Eleven lines showed a seedling resistance. Four of these lines are homozygous for resistance to leaf rust. Resistant plants were selected also in the field from 17 different accessions. Fourteen lines are homozygous for resistance. In addition, five lines showed mildew resistance. Genetic analysis was carried out with plants of one backcross and 16 F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> progenies. Segregation data suggests that resistance is probably controlled by one or two dominant genes. Two genes were found to be located on two different chromosomes by use of trisomics. Linkage between isozyme and resistance genes could not be determined.

(BAZ-3204)

In Zusammenarbeit mit: Geiger, Univ. Hohenheim; Sperling, Univ. Halle; Wricke, Inst. f. Angewandte Genetik, Univ. Hannover; Woytkow, Biol. Wissenschaftliches Forschungsinstitut, Univ. St. Petersburg, Rußland 095

enings will then be performed using F<sub>2</sub> progeny. To date, 350 accessions with 10 genotypes each were tested and 5 of them display resistance to crown rust. A further selection was performed in different varieties. Inbred lines were tested for purity with isoenzymes.

(BAZ-3214)

In Zusammenarbeit mit: Wilner, Genbank IPK Gatersleben, Außenstelle Malchow

096

### 1.3 Nachweis von Introgressionen aus *Hordeum bulbosum* in die Kulturgerste Identification of introgressions from *Hordeum bulbosum* into cultivated barley

Kandawa, M. A.; Wehling, P.

*Unter Einbeziehung von Resistenzprüfungen, cytologischen Untersuchungen und Erfassung von morphologischen Merkmalen sowie molekularen Markern sollen Introgressionen von H. bulbosum-Genen in H. vulgare-H. bulbosum-Bastarden nachgewiesen werden.*

*Introgressions of H. bulbosum genes into H. vulgare / H. bulbosum hybrids shall be identified by use of cytological analysis, morphological and molecular markers as well as resistance tests.*

Unter 22 euploiden (2n = 14) F<sub>3</sub>-Selbstungsnachkommen eines interspezifischen Bastards wurden 6 Pflanzen identifiziert, die in In-vitro-Resistenztests gegen das TR-2-Isolat von *Erysiphe graminis* f. sp. *hordei* resistent waren. Genotypen mit Feldresistenz gegen Mehltau wurden dagegen nicht gefunden. Zwei BYDV-resistente Pflanzen wiesen ein für *Hordeum bulbosum* spezifisches Allel des Pgd1-Locus auf, der auf den Chromosomen der homologen Gruppe 7 lokalisiert ist. Diese beiden Pflanzen wiesen darüber hinaus *H. bulbosum*-spezifische, morphologische Marker (Behaarung des Fahnenblattes, Blattlänge und Färbung der Nerven am Korn) auf. Eine der beiden Pflanzen trug darüber hinaus ein Pgd2-(5H)-sowie ein Amp1-*bulbosum*-Allel (6H). Diese Pflanze erwies sich als anfällig gegenüber *Puccinia hordei*, *E. graminis* und BaMMV, zeigte aber Resistenz im BYDV-Test. In der F<sub>4</sub>-Selbstungsnachkommenschaft dieser Pflanze zeigten alle Individuen eine hohe Resistenz gegenüber BYDV.

Abstract:

Resistances as well as morphological, isozyme and molecular markers were analyzed in F<sub>3</sub> progeny of a selfed *Hordeum bulbosum* x *H. vulgare* hybrid. Since preliminary tests indicated that small segments of *H. bulbosum* could be transferred into diploid barley later studies focussed on euploid (2n = 14) plants. Of a total of 22 progenies, six plants were found with resistance to the TR-2 isolate of powdery mildew (*Erysiphe graminis* f. sp. *hordei*) in *in vitro* tests, whereas no resistance occurred in the field. In two plants resistant to BYDV, a *H. bulbosum*-specific isozyme allele of the Pgd1 locus was found, the latter of which is located on homoeologous group 7 chromosomes. In addition, these plants expressed mor-

phological characters specific for the *H. bulbosum* parent, i.e. hairy flag leaves, long first and second leaves and coloured nerves of the grain. Further more, one of the two plants showed *H. bulbosum*-specific isozyme alleles of the Pgd2, Amp1 and Dial locus which are localized on homoeologous group 5H, 6H and 4H chromosomes, respectively. This plant and all of the F<sub>4</sub> progeny were resistant to BYDV. Preliminary tests of RFLP and RAPD markers also indicated the presence of *H. bulbosum* introgressions in the plants analyzed.

(BAZ.3219)

In Zusammenarbeit mit: Pickering (Crop & Food Research, Neuseeland); Proeseler, Habekuß, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben

097

## 2. Selektionsmethoden Selection Methods

### 2.1 Erarbeitung von Selektionsmethoden und -modellen für Kronenrostresistenz bei *Lolium*-Arten

#### Development of models and methods for selection of crown rust resistance in *Lolium* species

Lellbach, H.; Ruge, B.;

*Die effektive Selektion von Genotypen mit Resistenz gegen Puccinia coronata erfordert die Entwicklung von Selektionsmethoden und -modellen. In diesem Zusammenhang werden Kriterien (u.a. Pustelgröße, Anzahl der Pusteln) mit Hilfe eines In-vitro-Resistenztests ermittelt, die zur Charakterisierung von qualitativ und quantitativ vererbten Resistenzen gegen den Kronenrost geeignet sind. Zur Ermittlung von qualitativer Resistenz werden Einzelpustel-Isolate des Kronenrostes hergestellt, mit Hilfe von PCR-Techniken charakterisiert und zum Aufbau eines Differentialsortimentes eingesetzt.*

*For an efficient selection of crown rust resistant genotypes the relevant selection parameters (e. g. size and number of pustules) have to be defined in *in vitro* tests. These parameters can then be used in selection of genotypes with qualitative or quantitative resistance. For the identification of qualitative resistance, single-pustule lines of crown rust are produced and characterized by means of PCR-based techniques. These single-pustule lines will then be used for the production of a differential tester set.*

Die Ermittlung des Selektionsgewinns erfolgt durch standardisierte Prüfungen von Blattstücken auf Resistenz gegen Kronenrost. Die Vermehrung kronenrostresistenter Genotypen wird zur Überwindung der Selbstinkompatibilität unter strenger Isolation bei hohen Temperaturen (30 °C) durchgeführt. Es konnten bis zu 700 Samen mit einer Keimrate von bis zu 90% erzielt werden. Die Überprüfung der Sämlinge auf mögliche Fremdbestäubung erfolgt mit Isoenzymmarkern. Weiterhin wurden in ersten Versuchen Klonteile von 31 diploiden und

tetraploiden Genotypen in ihrem Resistenzverhalten gegenüber 5 verschiedenen Herkünften des Kronenrostes untersucht. Nach Vermehrung von etwa 20 Einzelpustellinien werden diese in die Prüfung von Inzuchtlinien einbezogen. Diese Isolate werden zur Zeit vermehrt und zur Ermittlung der oben genannten Parameter eingesetzt. Zusätzlich sollen die Isolate durch RAPD-Analyse und weitere PCR-Techniken charakterisiert werden.

#### Abstract:

The selection response in *Lolium* species in respect to resistance against crown rust is investigated by using a defined *in vitro* resistance test. Selfing of crown rust resistant genotypes was performed under 30 °C conditions to overcome self-incompatibility. The seed set was increased up to 700 per selfing. Purity of obtained inbred lines was tested by use of isozyme markers. In addition, clones from 31 diploid and tetraploid genotypes were investigated in their reaction against 5 accessions of crown rust. Inbred lines produced from these genotypes will be tested by use of single-pustule crown rust lines. These lines will be further characterized by use of RAPD and other PCR-based techniques. Major genes for crown rust resistance shall be mapped by use of molecular markers (isozymes, RAPD, RFLP, STS) in selfed progenies.

(BAZ-3205)

In Zusammenarbeit mit: P. Wilkins, Inst. of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth, Neuseeland 098

## 2.2 Analyse und Erschließung neuer Quellen genetischer Variabilität des Roggens

(*Secale cereale* L.)

**Analysis and exploitation of new resources for genetic variability in rye (*Secale cereale* L.)**

Wehling, P.; Linz, A.

*Ziel der Untersuchungen ist die Identifizierung neuer Gene für agronomisch wichtige Merkmale, vor allem Resistenzen gegenüber Roggenbraunrost (*Puccinia recondita* f. sp. *secalis* Rob. ex. Desm.) und ihre chromosomale Lokalisierung mit Hilfe molekularer Marker.*

*The studies aim at the identification of new genes for agronomically important genes in rye and their mapping by molecular markers. A trait of special interest in these studies is resistance to leaf rust (*Puccinia recondita* f. sp. *secalis* Rob. ex. Desm.).*

In Nachkommenschaften (F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> und BC) aus der Kreuzung zwischen braunrostresistentem Material einer Herkunft (Linie L.40) und braunrostanfälligen Genotypen wurden Resistenzen gegenüber Roggenbraunrost mit



Abb. 1: Kopplung eines RAPD-Markers (Größe 340 bp) mit einem Braunrostresistenzgen im Roggen (F<sub>2</sub>-Population); Spur 1-10: resistente Genotypen; Spur 11-18: anfällige Genotypen

Hilfe von In-vitro- und Feldinfektionen genetisch analysiert. Inokuliert wurde mit einem Sporengemisch (Herkunft Groß Lüsewitz). Die erhaltenen Spaltungsverhältnisse von 15 resistenten : 1 anfälligen Pflanze(n) in F<sub>2</sub> und von 3 resistenten : 1 anfälligen in BC deuten auf eine Vererbung des Resistenzmerkmals durch zwei dominante Gene hin. Aus einer großen Anzahl von getesteten F<sub>3</sub>-Nachkommenschaften wurden diejenigen mit einer 3 : 1-Spaltung selektiert, um beide Gene getrennt mit Hilfe molekularer Marker (Isoenzyme, RAPD, RFLP) zu markieren und chromosomal zu lokalisieren. Bisher ist es gelungen, eines der beiden Gene mit zwei RAPD-Loci zu markieren und chromosomal zuzuordnen. Ein Beispiel für einen der beiden mit Braunrostresistenz gekoppelten RAPD-Marker ist in Abbildung 1 dargestellt.

#### Abstract:

The studies aim at the identification of new genes for agronomically important traits in rye and their chromosomal localization by means of molecular markers. Genes of special interest are those controlling leaf rust resistance (*Puccinia recondita* f. sp. *secalis* Rob. ex. Desm.)

Genetic studies were conducted on the progenies (F<sub>2</sub>, F<sub>3</sub> and BC) of crosses between resistant and susceptible genotypes. The plant material was inoculated with a population of leaf rust collected in Groß Lüsewitz and was tested *in vitro* and under field conditions.

The results demonstrate that the F<sub>2</sub> plants displayed a segregation of resistant and susceptible phenotypes in a 15 : 1 ratio. In a backcross we observed a 3 : 1 ratio between resistant and susceptible plants. These results suggest a participation of two independent dominant genes in the control of leaf rust resistance in the present material. Further we have selected F<sub>3</sub> progenies which are segregating in a 3 : 1 ratio. The genetically characterized

plant material may serve as a valuable starting point for the mapping of major leaf rust resistance genes in rye. To date, one resistance gene has been mapped by two RAPD markers. One of these markers is shown in Fig. 1.

(BAZ-3218)

In Zusammenarbeit mit: Woylokow, Biol. Wissenschaftliches Forschungsinstitut, Univ. St. Petersburg, Rußland; Wricke, Inst. f. Angewandte Genetik, Univ. Hannover (199)

### 2.3 Entwicklung molekularer Marker für die Roggenzüchtung Development of molecular markers for rye breeding

Wehling, P.; Hackauf, B.

Für den Einsatz in der Züchtungspraxis sollen DNA-Marker entwickelt werden, die bei hohem Informationsgehalt (Kodominanz) schnell und kostengünstig darstellbar sind. Für diesen Zweck sollen PCR-gestützte, nicht-radioaktive Marker sowie effizientere RFLP-Techniken entwickelt werden.

*DNA marker techniques shall be developed and adapted for their use in practical plant breeding which are both informative and cost-effective. To this end, non-radioactive PCR and RFLP methods with a high sample throughput are needed.*

Als Grundlage für die Entwicklung praxistauglicher molekularer Marker wurden repräsentative cDNA-Bibliotheken ( $3,8 \times 10^{11}$  pfu/mL) aus Pollen-mRNA der Roggensorte 'Halo' in  $\lambda$ -ZAP Express (Stratagene) erstellt. Für Markeranalysen bei Roggen und anderen Gräsern steht damit ein umfangreiches Potential an cDNA-Sonden zur Verfügung, welches zunächst in RFLP-Analysen genutzt werden kann. Darüber hinaus ist durch Massensequenzierung der Banken die Entwicklung von STS-(Sequence Tagged Sites)-Markern möglich, die auf der Basis der PCR zu einer nichtradioaktiven Markertechnik beim Roggen (*Secale*) etabliert werden können.

Abstract:

For the development of molecular markers cDNA libraries from rye pollen mRNA have been established in  $\lambda$ -ZAP Express. Our future work will focus on the establishment of STS markers and other non-radioactive PCR-based techniques.

100

## 3. Hybridmechanismen Outbreeding Mechanisms

### 3.1 Erstellung definierter Inkompatibilitätsgenotypen bei Roggen

#### Development of defined self-incompatibility genotypes in rye

Hackauf, B.

*Das gametophytische Inkompatibilitätssystem der Gräser wird von zwei Loci, S und Z, mit multipler Allelie kontrolliert. Ein in der Literatur vorgeschlagener Einsatz dieses Systems für die Hybridzüchtung beim Roggen (*Secale*) setzt u.a. die Verfügbarkeit definierter Inkompatibilitätsgenotypen voraus. Diese werden innerhalb pseudokompatibel hergestellter Selbstungsnachkommenschaften heterozygoter S- und Z-Genotypen durch diallele In-vitro-Testbestäubungen definiert und anschließend in Bezug auf weitere Familien charakterisiert.*

*The gametophytic self-incompatibility (SI) system of the grasses is controlled by two multiallelic loci, S and Z. The proposed use of this system in hybrid breeding of rye depends on the availability of defined incompatibility genotypes. These genotypes are defined by diallelic in vitro test pollinations within pseudo-compatibly selfed progeny of heterozygous S- and Z-genotypes. Genotypes identified will then be characterized in relation to additional S- and Z-alleles from different families.*

Um ein Sortiment verschiedener S- und Z-Allele aufzubauen, wurden insgesamt 600 Einzelpflanzen verschiedener Roggensorten ('Halo', 'Wolkhova', 'Tauernroggen') hinsichtlich der mit dem S- bzw. Z-Locus gekoppelten Isoenzymloci Prx7 und  $\beta$ -Glu charakterisiert. Aus heterozygoten Pflanzen werden 1996 durch Temperaturbehandlung während der Blüte pseudokompatible Selbstungsnachkommenschaften erstellt, die in der beschriebenen Weise zur Definition von Inkompatibilitätsgenotypen genutzt werden können.

Für entsprechende Untersuchungen 1996 konnten bereits 24 solcher aus den Sorten 'Halo', 'Danko' und 'Merkator' entwickelten Selbstungsnachkommenschaften vorbereitet werden.

Abstract:

To establish a set of different S- and Z-alleles a total of 600 plants of different rye varieties ('Halo', 'Wolkhova', 'Tauernroggen') has been screened for the SI marker loci Prx7 and  $\beta$ -Glu. Segregating progenies will be developed in 1996 by selfing heterozygous plants under high temperature during anthesis.

To date, 24 inbred lines segregating at the S- or Z-locus have been produced for the definition of incompatibility genotypes in 1996.

(BAZ-3216)

In Zusammenarbeit mit: Wricke, Inst. f. Angewandte Genetik, Univ. Hannover

101

## Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität Institute for Stress Physiology and Quality of Raw Materials Groß Lüsewitz

Das Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität hat die Aufgabe, Züchtungsmethoden zu entwickeln, die es gestatten, die Toleranz gegen abiotischen Streß, darunter auch die anthropogen bedingten Streßfaktoren, die Nährstoffeffizienz und die biologische Rohstoffqualität landwirtschaftlich genutzter Kulturpflanzen zu erfassen. Die Arbeiten konzentrieren sich auf Stärkepflanzen (Getreide und Kartoffeln) und zukünftig in Zusammenarbeit mit dem Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen auf Ölpflanzen (Raps). Dabei werden die Komponenten des Stärke- und Lipidstoffwechsels (Enzyme, Ausgangs-, End- und Abbauprodukte der Biopolymeren) zur Charakterisierung der Streßtoleranz und der Rohstoffqualität genutzt. Neben den klassischen Analysemethoden kommen auch biochemische und gentechnische Methoden zur Anwendung. Die Methoden zur Erhöhung der Rohstoffqualität und Streßtoleranz schaffen in Kombination mit den Arbeiten zur Verbesserung der Resistenz gegen biotische Schaderreger in anderen Instituten der BAZ die Voraussetzungen für die Züchtung von Basismaterial und Sorten mit neuen (verbesserten) und stabilen Inhaltsstoffzusammensetzungen und Eigenschaften.

The aim of the Institute for Stress Physiology and Quality of Raw Materials is to develop relevant breeding methods to characterize the tolerance of abiotic stress including new forms of stress factors, nutrient efficiency and biological quality of raw material of agricultural cultivated plants. The work is concentrated on starch plants (cereals and potatoes) and in future in cooperation with the Institute for Breeding of Agricultural Cultivated Plants also on oil plants (rape). The components of the starch and lipid metabolism (enzymes, parent, end and degradation products of biopolymers) are used for the characterization of the stress tolerance and the quality of raw material. Classical analytical methods as well as biochemical methods and methods of genetic engineering are applied. This methods for the increasing of the quality of raw material and stress tolerance in combination with better resistance to biotic plant parasites in cooperation with other institutes in the Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants make up the basis to breed basic materials and varieties with better and stabil composition of the contents and properties.

### 1. Streßphysiologie Stress Physiology

#### 1.1. Beziehungen zwischen morphologisch-anatomischen sowie biochemischen Parametern und dem Ertrag unter Trockenstreß in verschiedenen Entwicklungsphasen der Kartoffel Relations between morphologic-anatomical and biochemical parameters and the yield under drought stress in different development stages of the potato

Balko, C.; Jürgens, H.-U.; Seddig, S.

*Kultur- und Wildformen der Kartoffel (Solanum) werden hinsichtlich ihrer Reaktion auf gezielten Trockenstreß charakterisiert. Ausgehend von Idiotypen, die sich bezüglich des Ertrages in ihrer Reaktion auf Trockenstreß unterscheiden (tolerant/sensibel), werden morphologisch-anatomische Merkmale sowie die Prolinakkumulation, die Proteinmuster verschiedener Organe bei Trockenstreß in Relation zum Ertrag und zu den Ertragskom-*

*ponenten gesetzt. Basierend darauf wird nach Selektionskriterien zur Entwicklung einfacher und schneller Selektionsmethoden gesucht.*

*Cultivated and wild forms of potato are characterized regarding their response to specific drought stress. Starting with idiotypes differing in their response to drought stress regarding yield (tolerant/sensitive) morphologic-anatomical characteristics as well as accumulation of proline and protein patterns of different organs under drought stress are set into relation to yield and yield components. Based on this, stress criteria are searched for the development of simple and fast selection methods.*

Das 1994 erstellte Indikatorsortiment wurde in einem Gefäßversuch (Kontrolle: 70 % der maximalen Wasserkapazität des Bodens [WK], Streß: 40 % WK) wiederholt hinsichtlich morphologischer, physiologischer und Ertragsparameter getestet. Dabei ergaben sich Ertragsverluste von 24...35 %, wobei die Rangfolge der Idiotypen im wesentlichen mit der der Vorjahre übereinstimmte. Bei der Wassernutzungseffizienz bestätigte sich das

Vermögen der Kartoffelpflanze, diese in Adaptation an den Trockenstreß zu steigern. Tolerante Idiotypen erreichten Steigerungen in der WUE bis zu 27 % gegenüber mehr sensiblen Idiotypen mit 14 %. Ergänzt wurden diese Untersuchungen durch Labortests zur Bestimmung des Rein-N/Roh-N-Verhältnisses, der Akkumulation von Prolin und löslichen Zuckern als auch Messungen der Chlorophyllfluoreszenz als indirekte Selektionskriterien. Die Abnahme des Rein-N/Roh-N-Verhältnisses und die Höhe der Prolinakkumulation in einem Blattscheibentest unter Streß bestätigen die Einstufungen der Idiotypen in „sensibel“ oder „tolerant“ entsprechend ihrer Ertragsverluste in Feld- und Gefäßversuchen. Weiterhin konnte nachgewiesen werden, daß die streßbedingte Akkumulation löslicher Zucker idiotypenabhängig ist und ebenso wie die Prolinakkumulation in engem Zusammenhang mit dem Energiestoffwechsel der Pflanze steht. Bei der Chlorophyllfluoreszenz gelang es, über Einzelblattmessungen einen Zusammenhang zur Trockentoleranz von Idiotypen herzustellen.

**Abstract:**

The indicator assortment, established in 1994, was investigated repeatedly in a pot trial under different soil water regimes regarding morphological, physiological and yield parameters. Yield losses of 24...35 % were observed, the ranking order of idiotypes corresponding basically with that of the years before. An increase in water use efficiency (WUE) as adaptation response of potato plants to the drought stress could be confirmed. Increases were up to 27 % in tolerant idiotypes compared with 14 % in the more sensible ones. Investigations were supplemented by laboratory tests estimating protein N/crude N ratio, the accumulation of proline and soluble sugars as well as measurements of chlorophyll fluorescence as indirect selection criteria. The decrease of the protein N/crude N ratio as well as the amount of proline accumulated in a leaf disc assay under stress correlates with the classification of idiotypes regarding their drought tolerance in field and pot trials. It could be proved, that like proline accumulation the stress induced accumulation of soluble sugars is dependent on the idio-type and related to the energy metabolism. Furthermore, it was possible to find a correlation between single leaf measurements of chlorophyll fluorescence and drought tolerance of idiotypes investigated.

(BAZ-3309)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Schüler, IPK Gatersleben, Genbank, Groß Lüsewitz 102

**1.2. Untersuchungen zur In-vitro-Selektion auf Trok-  
kentoleranz bei der Kartoffel unter Einsatz von  
Hydroxyprolin und/oder einem niedrigen Was-  
serpotential im Kulturmedium**

**Investigations into in vitro selection for drought  
tolerance in potato by means of hydroxyproline  
and/or a low water potential of the culture medi-  
um**

Balko, C.

*Es wird ein für eine In-vitro-Selektion geeignetes Kultur-  
system der Kartoffel (Solanum) erarbeitet. Anhand von  
Idiotypen, die sich in vivo in ihrer Reaktion auf Trok-  
kenstreß unterscheiden (tolerant/sensibel), sollen unter  
Einsatz von Hydroxyprolin und/oder verschiedenen os-  
motisch aktiven Substanzen im Kulturmedium Kulturbed-  
ingungen erarbeitet werden, die diese Unterschiede in  
der In-vitro-Phase widerspiegeln. Aufbauend auf der  
abzuleitenden Korrelation zwischen der Reaktion der  
Ganzpflanze und der auf Zell- und Gewebeebene, werden  
Selektionskriterien bzw. eine Methode erarbeitet, die  
eine In-vitro-Selektion auf Trockentoleranz erlauben  
sollen.*

*A culture system suitable for in vitro selection is worked  
out. With idiotypes differing in their response to drought  
stress in vivo (tolerant/sensitive) culture conditions  
should be established using hydroxyproline and/or os-  
motically active substances in the culture medium to  
reflect these differences in the in vitro phase. Based on  
the correlation between the response of the whole plant  
and that on cell and tissue level, selection criteria and a  
method, respectively, are worked out which should allow  
an in vitro selection for drought tolerance.*

Ein Selektionsansatz auf der Basis von Kallusprimäraufschwemmungen (KPA) auf Selektivmedien mit 7,5 mM Hydroxyprolin bzw. 750 mM Sorbitol wurde im Vergleich von 8 Idiotypen etabliert. Die Auswahl der Konzentrationen erfolgte nach Vorversuchen im Jahr 1994, die erwarten ließen, daß Pflanzen aus selektierten Kalli eine bessere Adaptation an erneute Streßeinwirkung zeigten, als Kontrollpflanzen. Bei 2 bzw. 3 Idiotypen konnten im Anschluß an die Streßphase aus selektierten Kalli-Pflanzen regeneriert werden. Die In-vivo-Untersuchungen der erzeugten Linien auf erhöhte Trokentoleranz stehen noch aus. Ein weiterer breiter Selektionsansatz auf der Basis von KPA der Sorte 'Kennebec' wird gegenwärtig durchgeführt. Es ist geplant, die selektierten Einzelpflanzen in vitro hinsichtlich ihres Wachstums und anschließend daraus hervorgegangene Linien und Nachkommen in vivo hinsichtlich der Ertragsbildung unter Streßbedingungen zu testen.

**Abstract:**

A selection attempt was made using suspended callus cultures plated on selective media containing 7,5 mM hydroxyproline and 750 mM Sorbitol, respectively, in comparison of 8 idiotypes. The choice of concentrations was based on experiments of the year 1994, which gave reason to expect, that plants from selected calli show a

better adaptation to repeated stress conditions, than control plants. Following the stress phase plants could be regenerated from selected calli of 2 and 3 idiotypes, respectively. In vivo investigations of these plants regarding their drought tolerance are not done yet. A further large selection attempt on the basis of suspended callus cultures of 'Kennebec' is being carried out at present. It is intended to test the selected plants in vitro regarding their growth and their progenies in vivo regarding yield formation under stress.

(BAZ-3310)

103

**1.3. Selektion und Regeneration von hydroxyprolin-resistenten Zelllinien der Wintergerste mit dem Ziel der Steigerung der Frosttoleranz**  
**Selection and regeneration of cell lines resistant to hydroxyproline for increasing the winter hardiness of barley**

Balko, C.; Tantau, H.

*Erarbeitung einer Methode zur In-vitro-Selektion auf Frosttoleranz bei Gerste. Methodik: Kalli aus Antherenkultur werden auf hydroxyprolinhaltigem Medium kultiviert und die überlebenden Zellaggregate regeneriert. Die Frosttoleranz der selektierten Pflanzen und der Selbstungsnachkommenschaft wird an Hand des Elektrolytverlustes in einem Frosttest überprüft.*

*Establishment of a method for in vitro selection for frost tolerance in winter barley. Methods: Calli gained from anther culture are cultivated on media containing hydroxyproline and plants are regenerated from the surviving cell aggregates. Frost tolerance of the selected plants and their selfing progenies is tested by electrolyte leakage in a frost test.*

Ziel der Arbeit war es, über ein In-vitro-Selektionsverfahren hydroxyprolinresistente Pflanzen mit erhöhter Frosttoleranz zu gewinnen. Die erhöhte Frosttoleranz wurde sowohl bei Regeneraten als auch bei deren Nachkommenschaft in der R<sub>1</sub>- und R<sub>2</sub>-Generation nachgewiesen. In der R<sub>2</sub>-Generation wurden homozygot tolerante Selbstungsnachkommenschaft selektiert, die im Vergleich zur homozygot sensitiven Selbstungsnachkommenschaft eine erhöhte Frosttoleranz um bis zu 3,3 °C aufweisen. Für Wintergerste bedeutet dieses Ergebnis eine erhebliche Steigerung in der Frosttoleranz, da die festgestellte maximale Differenz im Indikatorsortiment (Frosttoleranzgruppen II..VII), die ebenfalls mit Hilfe der Leitfähigkeitsmethode bei geringfügig veränderten Bedingungen ermittelt wurde, nur 3,4 °C beträgt. Zur Zeit erfolgen Zwischenvermehrungen des selektierten Materials, damit weitere Prüfungen auf Pflanzenebene sowohl im Labor als auch im Feld durchgeführt werden können. In den Regeneraten und deren Nachkommenschaft wurde der Prolingehalt bestimmt. Eine positive Korrelation zwischen Frosttoleranz und Prolingehalt konnte in der R<sub>2</sub>-Generation festgestellt werden.

Abstract:

The aim of this work was to obtain hydroxyproline resistant plants with increased frost tolerance by means of in vitro selection. An increased frost tolerance could be proved in regenerated plants from selected calli as well as in their R<sub>1</sub> and R<sub>2</sub> progenies. In the R<sub>2</sub> generation homozygous tolerant selfing progenies could be selected with an increased frost tolerance up to 3,3 °C compared to a homozygous sensitive one. At present the selected lines are propagated for further investigations on whole plant and field level. Proline content was determined in regenerated plants and their progenies. In the R<sub>2</sub> generation the expected positive correlation between increase in frost tolerance and proline content could be found.

(BAZ-3322)

In Zusammenarbeit mit: Dörffling, Univ. Hamburg  
104

**1.4. Änderungen in den Elektrophoresemustern der löslichen Proteine in Kartoffelgenotypen als Reaktion auf Trockenstress**  
**Changes in the electrophoretic patterns of soluble proteins in potato genotypes as a response to drought stress conditions**

Seddig, S.; Balko, C.

*Pflanzengewebe der Kartoffel (Solanum) wird hinsichtlich seines Proteingehaltes und der Enzymaktivität charakterisiert. Lösliche Proteine verschiedener Pflanzenteile werden extrahiert und Veränderungen im Elektrophoresemuster nach Einwirkung von Trockenstress untersucht. Mögliche Stressproteine werden dabei analysiert. Es wird überprüft, inwieweit Stressproteine als Marker für eine Selektionsmethode geeignet sind.*

*Plant tissue of potato is characterized with regard to their protein content and enzyme activity. Soluble proteins are extracted from different sections of the plants and changes in the electrophoretic pattern following drought stress are investigated. Possible stress proteins are analysed. The suitability of stress proteins as marker for a selection will be examined.*

Kartoffelsorten bzw. -zuchtstämme, die sich hinsichtlich ihrer Trockenstresstoleranz unterscheiden, wurden wiederholt in einem Gefäßversuch mit verschiedenen Wasserkapazitäten (WK) des Bodens geprüft. Zu verschiedenen Zeitpunkten erfolgte die Bestimmung des Stickstoffgehaltes der Blätter und nach der Ernte der Knollen. Dabei unterscheiden sich die gleichzeitig erfaßten Roh-N- bzw. Rein-N-Werte im wesentlichen um die Konzentration der freien Aminosäuren und der Halbamide, deren Konzentration unter Streßeinwirkung beträchtlich variiert. Aus der Abnahme des Rein-N/Roh-N-Verhältnisses unter Streß sollte eine Einteilung der Idiotypen hinsichtlich ihrer Toleranz möglich sein. Dabei zeigte sich, daß die Reproduzierbarkeit der Einzelwerte im Gefäßversuch unter den gegebenen Streßbedingungen nicht ausreicht, um signifikante Unterschiede in der Toleranz gegenüber Trockenstress zu diskutieren. Erschwerend kommen die unterschiedlichen Witterungs-

verhältnisse der einzelnen Jahre hinzu, so daß eine einheitliche Differenzierung der Kartoffelidiotypen über 3 Jahre hinsichtlich ihrer Reaktion auf Wassermangel nicht vorgenommen werden kann. Aus diesem Grund wurde ein Labortest etabliert, in dem durch eine Lösung mit hoher PEG-Konzentration in den Blättern der zu untersuchenden Idiotypen für einen relativ kurzen Zeitraum von 72 h starker Streß initiiert wird. Während in den Gefäßversuchen im günstigsten Fall die Rein-N/Roh-N-Verhältnisse unter Streß bis zu 11 % abnehmen, sind in den Laborversuchen nach 72 h Abnahmen bis zu 29 % zu beobachten. Der Gang der Werte, in Wiederholungen bestätigt, erlaubt die Einstufung der Idiotypen in „sensibel“ und „tolerant“ entsprechend ihrer Ertragsverluste in Feld- und Gefäßversuchen. Virusbefall der Pflanzen führt bereits ohne Trockenstreßwirkung zu einer merklichen Abnahme des Rein-N-Roh-N-Verhältnisses und kann die Einstufung der Idiotypen verfälschen. Um von definiertem einheitlichen Material ausgehen zu können, ist daher die Verwendung von virusfreien In-vitro-Pflanzen, die auf Substrat in einer Nährlösung angezogen sind, zu empfehlen. Gleichzeitig ist zu beachten, daß die Eingruppierung der Idiotypen bei schwachem bzw. starkem Streß nicht identisch sein muß. Die löslichen Proteine der Blatt- und Knollenextrakte wurden elektrophoretisch auf Veränderung ihrer Muster unter Streß untersucht. Neben dem Nachweis der Gesamtproteine erfolgte die Testung von insgesamt 30 Enzymsystemen. Für die Untersuchung des Einflusses von Trockenstreß schienen für Blattextrakte 6 und für Knollenextrakte 9 Isoenzyme geeignet zu sein. Trotz Einhaltung reproduzierbarer Bedingungen wird aber durch die Untersuchung der Isoenzyme keine quantitative Abstufung der Idiotypen hinsichtlich ihrer Toleranz möglich sein, sondern maximal eine Vorselektion in „tolerante“ und „sensible“ Pflanzen erfolgen können.

**Abstract:**

Leaves and tubers of stressed and non-stressed potato plants were characterized regarding N-content at different developmental stages. Crude N and protein values differ basically in the amount of free amino acids and compounds as asparagine and glutamine the concentrations of which vary considerably under stress. Therefore, the decrease of the protein N/crude N ratio should enable a classification of idiotypes regarding their drought tolerance. It was shown that there could not be found significant differences in this ratio between idiotypes with the given reproducibility in the pot trials. For this reason a laboratory test was established inducing stress in single leaves by PEG-solution over 72 hours. Uniform plant material was gained by potting in vitro plants in artificial substrate with nutrient solution. With this test a decrease in the protein N/crude N ratio of up to 29 % could be observed compared to the pot trials with up to 11 % only. The tendency of values allows a classification in „sensible“ and „tolerant“ idiotypes with regard to their yield losses in pot and field trials. The soluble proteins extracted from leaves and tubers were investigated by

electrophoresis regarding changes in their pattern in response to stress. 30 enzyme systems were tested. Results seem to enable a preselection of sensible and tolerant types.

(BAZ-3313)

105

**1.5. Entwicklung einer automatischen Bestimmungsmethode für Prolin in Wintergerste zur Beurteilung der Streßtoleranz von Zuchtmaterial auf Winterhärte**

**The development of an automatic method for proline determination in winter barley to assess the stress tolerance of breeding material to winter hardiness**

Jürgens, H.-U.; Balko, C.

*Ein ausgewähltes Wintergerstensortiment wird hinsichtlich seiner morphologischen und physiologischen Merkmale auf Kältetoleranz untersucht. Dazu soll ein für Zuchtmaterial geeignetes automatisches Verfahren zur schnelleren Prolinbestimmung mit hohem Probendurchsatz aufgebaut werden.*

*The morphological and physiological parameters of an assortment of winter barley are investigated with regard to frost tolerance. For this is to be developed an automatic method for fast determination of proline with high frequency.*

In Pflanzen wird oft eine streßbedingte Akkumulation der freien Aminosäure Prolin beobachtet, während unter optimalen Bedingungen wachsende Pflanzen einen niedrigen Gehalt an freiem Prolin aufweisen. Die Erhöhung des Prolingehaltes tritt unspezifisch ein, wie z. B. bei Wassermangel, Kältestreß und Salzstreß. Aus diesen Beobachtungen heraus war es das Ziel, eine Methode für das Screening von Pflanzenmaterial hinsichtlich seiner Toleranz gegenüber Streßfaktoren zu entwickeln. Für die methodischen Untersuchungen wurde zunächst ein bereits charakterisiertes Gerstensortiment ausgewählt. Für die Evaluierung großer Serien von Pflanzenmaterial ist die diskontinuierliche Bestimmung von Prolin mit einem sehr hohen Aufwand verbunden. Das hier entwickelte automatische Verfahren ermöglicht einen Durchsatz von 50...60 Proben in der Stunde. Sowohl bei der Kalibrierung mit Standardlösungen als auch mit einer Standardaddition zu Pflanzenextrakten wurde eine lineare Beziehung zwischen Konzentration und Extinktion gefunden. Die erhaltenen Prolinwerte korrelieren gut mit denen der diskontinuierlichen Methode, liegen aber im Durchschnitt um 5 µg/100 mg Frischmasse höher. Als Ursachen werden eine veränderte Probenaufbereitung und Zusammensetzung der Reaktionslösung sowie die Eigenfärbung der Pflanzenextrakte angesehen. Erwartungsgemäß reagieren die Wintergersten-Pflanzen bereits 7...10 Tage nach Streßbeginn mit einer deutlichen Prolinakkumulation. Sorten wie 'Borwina', 'Nebelia' und der Stamm HWV 2,460, die für eine bessere Frosttoleranz bekannt sind, zeigen einen merklich höheren Prolingehalt als sensible Sorten wie z. B. 'Jutta'. In dem

untersuchten Zeitraum von 6 Wochen wird nach etwa 3 Wochen eine maximale Konzentration der Aminosäure erreicht, die dann weitgehend konstant bleibt und für kältetolerante und kältesensible Pflanzen verschieden ist. Durch den relativ früh einsetzenden Prolinanstieg erscheint eine Selektion von Pflanzenmaterial bereits nach 10 Tagen möglich. Durch Störungen verursachte Temperaturerhöhungen während der Akklimation führen zu einer schnellen Abnahme des Prolinwertes, der dann erneut unter Streßbedingungen ansteigt. Auch in diesem Falle akkumulieren die frosttoleranteren Wintergerstensorten größere Mengen an Prolin. Die automatische Bestimmungsmethode für Prolin wurde inzwischen auch für Trockenstreßuntersuchungen an Kartoffeln und Ackerbohnen geprüft.

**Abstract:**

The free amino acid proline content is accumulated frequently in stress situations and it is possible to use it as marker for selection of breeding material to winter hardiness. Distinct differences in proline level of stress tolerant and sensitive varieties of winter barley were observed already after hardening treatment at 4 °C for 7...10 days. A rapid, semi-automated method for the specific colorimetric determination of proline in plant material is described and tested on evaluated assortment of barley, potatoes, and field bean.

(BAZ-3306)

In Zusammenarbeit mit: Dörffling, Univ. Hamburg  
106

**1.6. Entwicklung einer Methode zur quantitativen Bestimmung von Abscisinsäure (ABA) in Wintergerste zur Beurteilung der Streßtoleranz von Zuchtmaterial auf Winterhärte und Auswuchsresistenz**

**The development of a method for the quantitative determination of abscisic acid (ABA) in winter barley to assess the stress tolerance of breeding material to winter hardiness and sprouting resistance**

Jürgens, H.-U.

*Für die Untersuchung von Getreide (insbesondere von Gersten- und Roggensortimenten) hinsichtlich ihrer Frosttoleranz und Auswuchsresistenz wird ein auf die vorhandene Analysentechnik abgestimmtes Verfahren zur Bestimmung von ABA als allgemeinem Marker für Streß entwickelt und getestet.*

*A method for the estimation of abscisic acid (ABA) as general marker for stress is being developed on the basis of existing analytical instruments.*

Das Phytohormon Abscisinsäure (ABA) ist ein essentieller Bestandteil der höheren Pflanzen. Es wirkt regulierend auf den Wasserhaushalt und wird ähnlich wie Prolin unter Streßeinwirkungen akkumuliert, so daß es sehr häufig als Streßmarker Verwendung findet. Auch für die im Institut laufenden Untersuchungen zur Beurteilung der Trocken- und Kältetoleranz von Kartoffeln, Acker-

bohnen und Wintergerste soll Abscisinsäure bestimmt werden. Durch die in der Pflanze vorliegenden sehr geringen Konzentrationen müssen umfangreiche Reinigungs- und Anreicherungs-schritte vorgenommen werden. Die große Empfindlichkeit des Phytohormons gegenüber Enzymen und Luftsauerstoff erschwert eine Analyse und macht den Einsatz eines Standards erforderlich. Als erster Schritt wurde Abscisinsäure kalt extrahiert und mittels Partitionierung in eine organische Phase überführt. Anschließend erfolgte eine Vorreinigung und Aufkonzentrierung durch präparative Reverse Phase Chromatographie und Festphasenextraktion. Eine anfänglich durchgeführte Ionenpaar-HPLC-Analyse ließ keine Berücksichtigung der durch die Aufreinigung entstandenen Verluste an ABA zu und wurde durch die empfindlichere GC/MS-Analytik ersetzt. Die eingesetzte SIM-Technik ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung von ABA und der als inneren Standard verwendeten  $d_6$ -ABA. Nach Kalibrierung des Massenspektrometers läßt sich Abscisinsäure durch Zugabe einer definierten Standardmenge an  $d_6$ -ABA bereits zu Beginn der Aufarbeitung bestimmen.

**Abstract:**

It was developed a method for determination of abscisic acid (ABA) as general marker for stress with HPLC and GC/MS for investigations of cereals (especially winter barley and rye assortments) to assess the frost tolerance and sprouting resistance.

(BAZ-3305)

107

**1.7. Untersuchungen zum Einfluß von Trockenstreß auf die Ertragsstabilität der Ackerbohne (*Vicia faba* L.), Veränderungen morphologischer und physiologischer Merkmale sowie Inhaltsstoffe**  
**Investigations into the influence of drought stress on yield stability of field beans (*Vicia faba* L.), changes in morphological and physiological parameters and contents**

Balko, C.; Jürgens, H.-U.; Seddig, S.

*Trockenheit ist der wichtigste ertragsbegrenzende abiotische Faktor bei der Ackerbohne und beeinflusst damit auch die Ertragsstabilität negativ. Ziel des Forschungsvorhabens ist der Nachweis genotypischer Variabilität in morphologischen, physiologischen und Ertragsmerkmalen in Reaktion auf Trockenstreß bei der Ackerbohne und die Erarbeitung von Selektionskriterien. Ausgehend von Feldversuchen in Göttingen und Hohenheim sowie Gefäßversuchen soll ein Indikatorsortiment erstellt werden. Ein Labortest zur Beurteilung von Trockentoleranzunterschieden mittels der Prolinakkumulation soll erarbeitet werden.*

*Water deficit is the most important yield limiting abiotic factor in field beans and therefore influences yield stability negatively. The aim of the research project is to give proof of genotypic variability in morphological, physiological and yield parameters of field beans in*

*response to drought stress and the development of selection criteria. Based on field trials in Göttingen and Hohenheim and on pot trials, an indicator assortment will be established. A laboratory test for the assessment of differences in drought tolerance of field beans by means of proline accumulation will be developed.*

Aufbauend auf Feldversuchen an umfangreichem Ackerbohnenmaterial in Göttingen und Hohenheim sowie dem Gefäßversuch von 1994 wurde ein vorläufiges Indikatorsortiment für Trockentoleranz, bestehend aus 8 Inzuchtlinien von Sorten/Stämmen, zusammengestellt und im Gefäßversuch bei 3 verschiedenen Bodenwasserregimen getestet. Die Rangfolge der Relativerträge (unbewässert:bewässert) zeigte eine gute Übereinstimmung mit den Feldversuchen und Vorversuchen im Gefäß. Eine unterschiedliche Regelung des Ertragsverlustes über die Ertragskomponenten „TKM“ und „KZ/Pflanze“ konnte in Abhängigkeit vom zeitlichen Einsetzen des Stresses und von der Blühdauer beobachtet werden. In der Wassernutzungseffizienz (WUE) unterschieden sich die Linien weniger, und es zeigte sich keine Verbesserung der WUE in Adaptation an die Streßbedingungen. WUE und Harvest Index korrelierten negativ mit den Relativerträgen. Der in Zusammenarbeit mit der Universität Rennes entwickelte Blattscheibentest zur Prolinakkumulation wurde an die vorliegenden Bedingungen adaptiert und auf das gesamte Sortiment ausgedehnt. Pflanzen wurden unter kontrollierten Bedingungen in der Klimakammer in künstlichem Substrat mit Nährlösung angezogen. Die Entnahme von Blattscheiben erfolgte aus dem jüngsten voll ausgewachsenen Blatt. Die Blattscheiben wurden 48 Stunden einer „Streß“lösung mit PEG 6000 ausgesetzt und zu mehreren Zeitpunkten der Prolingehalt am Fließautomaten bestimmt. Eine gute Korrelation zwischen Relativerträgen im Feld- und Gefäßversuch und der Höhe der Prolinakkumulation im Test läßt die Prolinakkumulation grundsätzlich als Kriterium für eine Selektion auf Trockentoleranz geeignet erscheinen. Zusätzlich wurde das Verhältnis der Rein-N-Roh-N-Werte sowohl in Blättern gestreßter Pflanzen als auch in Blättern von Kontrollpflanzen bestimmt. Aus der engen Korrelation zu den Relativerträgen in Gefäß- und Feldversuchen kann abgeleitet werden, daß eine starke Abnahme dieses Verhältnisses unter Streß auf eine hohe Toleranz schließen läßt. Ein Blatttest im Labor zur Realisierung reproduzierbarer Bedingungen wurde etabliert. Gleichzeitig wird ein Test zur Bestimmung der Akkumulation löslicher Zucker als weiteres Selektionskriterium erarbeitet.

**Abstract:**

Basing on field trials of *Vicia faba* lines on a large scale in Göttingen and Hohenheim, as well as a pot trial in the year 1994, an indicator assortment of 8 inbred lines differing in their drought tolerance was assembled. It was tested in a pot trial under 3 different soil water regimes. Ranking order of relative yields correlated well with that of field trials and the first pot trial. In dependence on the beginning of stress period, yield losses occurred as losses in the number of seeds per plant or in the thousand seed

weight. Differences in water use efficiency (WUE) were small and no increase of WUE in adaptation to the stress conditions could be observed. WUE and harvest index were negatively correlated with relative yields. Proline accumulation was estimated in a leaf disc assay, developed in cooperation with the University of Rennes. A close correlation between relative yield in field and pot trials and the amount of proline accumulated under stress indicates that proline accumulation can be used as indirect selection criterium. Additionally the ratio of protein N/crude N was determined in leaves of stressed and non-stressed plants. From the close correlation to the relative yields in pot and field trials can be concluded, that a great decrease in this ratio under stress points to a high drought tolerance. A leaf test in the laboratory, which guarantees reproducible conditions, was established. Basing on the leaf disc test accumulation of soluble sugars is checked as a further indirect selection criterium. (BAZ-3321)

In Zusammenarbeit mit: Stelling, Univ. Göttingen; v. Kittlitz, Univ. Hohenheim  
108

**1.8. Untersuchung ausgewählter Enzymsysteme in Getreide**

**Investigations of selected enzyme systems in cereals**

Seddig, S.

*In Roggen, Gerste und Weizen werden Speicherproteine, Enzyme bzw. Enzyminhibitoren, die am Kohlenhydratstoffwechsel beteiligt sind, untersucht. Die den Stärkeabbau katalysierenden Hydrolasen und Transferasen sollen charakterisiert und ihre Eignung als Marker für Rohstoffqualität und Streßtoleranz geprüft werden.*

*In rye, barley and wheat reserve proteins, enzymes and enzyme inhibitors, respectively, which participate in the carbohydrate metabolism, are investigated. Hydrolases and transferases for the degradation of starch are characterized and examined with regard to their suitability as marker for quality of raw material and stress tolerance.*

Ausgewählte Sorten von Roggen, Gerste und Weizen wurden hinsichtlich ihres Stickstoffgehaltes charakterisiert. Lösliche Proteine der trockenen und vorgequollenen Körner bzw. Keimlinge wurden nach verschiedenen Methoden extrahiert und elektrophoretisch untersucht. Zunächst erfolgten die Aufnahme und der Vergleich der Elektrophoresemuster von 25 Isoenzymen (IEF und/oder DISK PAGE) in Abhängigkeit von den verwendeten Pflanzenteilen, der Quellzeit bei Verwendung vorgequollener Samen und des verwendeten Extraktionspuffers.

**Abstract:**

A range of cultivars of rye, barley and wheat were characterized regarding their nitrogen content. Soluble proteins of dry and pre-swollen seeds as well as seedlings were extracted comparing different methods and investigated by electrophoresis. Electrophoretic patterns of 25

isoenzymes (IEF and/or DISK PAGE) were identified and compared with regard to the parts of the plant samples were taken from, the duration of swelling when seeds were used, and the buffers for extraction.

(BAZ-3315)

109

## 2. Biologische Rohstoffqualität Quality of Raw Materials

### 2.1. Entwicklung züchtungsrelevanter analytischer Methoden zur Verbesserung der Roggenqualität Development of breeding relevant analytical methods to improve the rye quality

Flamme, W.

*Für die Qualitätszüchtung an Roggen für Nahrung, Futter und Industrie wird eine Analytik erarbeitet, die sowohl die Fortschritte der Getreidechemie und -technologie als auch der Analytik berücksichtigt. Schwerpunkte sind Auswuchsresistenz, Mahl- und Backqualität, toxische Futterkomponenten, Stärke und Pentosane und die Autolyse der polymeren Inhaltsstoffe.*

*Analytical methods will be elaborated for high-quality breeding of rye for food, feed and industrial use, in consideration of progress in cereal chemistry and technology as well as in analytical procedures. Priorities are sprouting resistance, milling and baking quality, toxic feed components, starch and pentosans and autolysis of polymeric substances.*

Roggen besitzt regional einen hohen Stellenwert im Anbau und in der Verwertung im Nahrungs- und Futterbereich. Als Industrierohstoff findet er vornehmlich zur Ethanolproduktion im Kaltmaischverfahren unter Nutzung der roggeneigenen Hydrolasen zum Abbau der Zellwände und besonders der Stärke Anwendung. Im Unterschied zum Weizen prägen der enzymatische Status und der hohe Gehalt an quellfähigen und hochviskosen Pentosanen das Qualitätsbild. Neben der Verbesserung der Auswuchsresistenz sind auch gute Möglichkeiten vorhanden, Roggen als amylassereiches Malzsubstitut auf dem Halm zu nutzen. Die Veränderung des Gehaltes und der Eigenschaften der Pentosane bietet die Möglichkeit, nahezu alle Qualitätsparameter - von den Mahleigenschaften über Teig- und Gebäckqualität, den Futterwert und die industrielle Verarbeitung (Ethanol, Stärke) - zu verbessern. Das betrifft nicht nur die Produktqualität, sondern auch die Rationalisierung der Produktionsabläufe. Durch die gezielte Entwicklung, Adaptation bzw. Einordnung von chemischen, physikalischen, biochemischen und biotechnologischen Methoden soll die Erfassung der Rohstoff- und Stärkequalität präzisiert und rationalisiert werden. Die einzelnen Qualitätskriterien wie Auswuchsverhalten, Enzymstatus, Mahl- und Backqualität, Futterwert-Toxizität, Stärkegehalt und -qualität sollen durch Komplexzahlen charakterisiert werden. Die Schätzung der Heritabilität ausgewählter

Parameter der Stärke und Zellwand und dominierender Enzymsysteme soll die Wirksamkeit der zur Selektion angewendeten Analysemethoden untermauern.

Abstract:

Breeding relevant analysis of raw material and starch with classical, biochemical and biotechnological methods are important factors for realization of aims in breeding of high quality for food, feed, and industrial use of rye. The analysis includes the composition and properties of raw materials, starches, cellwalls as well as the activity of enzymes for starch synthesis and degradation.

(BAZ-3317)

110

### 2.2. Bearbeitung von züchtungsrelevanten biochemischen Methoden bei industriellen Verwertungseigenschaften von Roggen mit Schätzung genetischer Parameter und gleichzeitiger Erstellung von Ausgangsmaterial mit verbesserten Qualitätseigenschaften

**Biochemical breeding methods to improve the industrial processing of rye, estimation of genetic parameters and breeding of basis material with improved quality**

Flamme, W.

*Für die Verbesserung der non Food-Qualität von Hybridroggen sollen Teilpopulationen des „Gülzower rezessiven Kurzstrohroggens“ mit hoher Aktivität der Amylasen zur Vollreife ohne sichtbaren Auswuchs, mit reduziertem Gehalt und Viskosität der Pentosane und mit erhöhtem Verkleisterungsmaximum und -temperatur genutzt werden. Züchtungsrelevante Methoden zur Analyse der Amylaseaktivität, des Pentosangehaltes, der Extraktviskosität und der Verkleisterungseigenschaften, auch anwendbar zur Analyse von Einzelpflanzen, sind zu entwickeln oder zu adaptieren.*

*For improvement of non-food quality of hybrid rye, partial populations of "Gülzow recessive short straw rye" with high activity of amylases in the full ripeness phase without visible germs, with reduced content and viscosity of pentosans and high gelatinization maximum and temperature of whole rye meal will be used. Breeding-relevant methods have to be developed or to be adapted to analyse the activity of amylases, pentosan content, extract viscosity, and gelatinization properties (maximum and temperature), applicable in single plants of rye too.*

Roggen zeichnet sich durch seine Auswuchsneigung und den hohen Gehalt an Pentosanen aus. Diese Faktoren beeinflussen die Verarbeitungseigenschaften im Nahrungs-, Futter- und Industriebereich maßgeblich. Auf der Basis standfester, krankheitsresistenter Teilpopulationen des „Gülzower rezessiven Kurzstrohroggens“ mit Eignung für den low input-Anbau sollen die existierenden Qualitätsformen weiter selektiert und für die Hybridzüchtung entsprechende isogene Linien erzeugt werden. Reduzierte (Auswuchsresistenz) bzw. erhöhte Amylaseak-

tivität ohne visuellen Auswuchs (Malzsubstitut) zum Erntezeitpunkt und reduzierte Gehalte an unlöslichen Pentosanen (Quellstoffe) sollten die Eignung von Roggen besonders für den Industriebereich erweitern. Parallel zu den Selektionsarbeiten werden Analysenmethoden entwickelt bzw. adaptiert, die künftig auch außerhalb des Züchtungsbereiches zur Qualitätscharakteristik von Roggen geeignet sind.

#### Abstract:

Increase and reduction of amylase activity and pentosan content in preselected partial population of „Gülzow recessive short straw rye“ and the production of inbreed lines for breeding of hybrid varieties are and will performed. Aim of this work is to select rye forms useful as malt substitut, e.g. for production of ethanol in cold mashing procedure. By means the reduction of insoluble and soluble pentosans will regulated the water absorption and extract viscosity and by that the increase of rye use in the areas of food, feed, and nonfood. Parallel to the selection, methods for quality analysis of rye are and will developed or adapted, which are suitable not only in the rye breeding.

(BAZ-3327)

In Zusammenarbeit mit: Wortmann, HYBRO, Bad Schönborn

111

### 2.3. Biochemische Grundlagen und Methoden zur Erhöhung des Gehaltes, der Ausbeute und der Qualität von Getreidestärke für die industrielle Verwertung durch züchterische Maßnahmen

#### Biochemical bases and methods for increasing content, yield and quality of cereal starches for industrial processing by breeding

Flamme, W.; Jansen, G.; Jürgens, H.-U.

*Zur Verbesserung der Getreidequalität für die industrielle Verwertung wurden züchtungsrelevante Methoden für die Analyse der Getreide- und Stärkequalität entwickelt. Auf der Basis dieser Methoden wurden aktuelle Sorten, Basismaterial und Material der Genbank (IPK Gatersleben) von Roggen, Triticale und Gerste analysiert. Im Mittelpunkt der Arbeiten standen die Amylaseaktivität (Auswuchsresistenz und „Enzyme farming“), die Pentosane als qualitätsbestimmende Faktoren der Rohstoffe „Roggen“ und „Triticale“, der Gehalt und die Ausbeuten an Stärke und das Verhältnis von Amylose und Amylopektin in der Stärke, besonders bei Gerste.*

*For improvement of quality in cereals for industrial uses breeding relevant methods for analysis of cereal and starch quality are developed. On the basis of this methods actual varieties, basic breeding material, and materials of genbank (IPK Gatersleben) are analyzed. In the centre of this work are standing the activity of amylases (sprouting resistance and enzyme farming), pentosans as determining factors in kernels and flour, the content and yield of starch, and the relation of amylose to amylopectin in the starch, particularly in barley.*

Veränderte Stärkequalitäten, ein hohes Enzympotential, reduzierter Gehalt und Viskosität der Nichtstärkepolysaccharide und eine verbesserte Auswuchsresistenz sind für die Gewinnung spezieller Stärken und Hydrolyseprodukte notwendig. Dazu wurde ein züchtungsrelevantes Analytiksystem etabliert und ausgewählte Formenkreise evaluiert.

#### \* Roggen:

Aus der Population „Gülzower rezessiver Kurzstrohroggen“ wurden Teilpopulationen mit sehr guter Auswuchsresistenz, hohem Autolysepotential zur Vollreife ohne visuellen Auswuchs, reduziertem Gehalt/Viskosität der Pentosane und erhöhtem Korngewicht (TKG) entwickelt, die sich außerdem durch hohe Standfestigkeit, Resistenzen gegen Mehltau und Braunrost sowie low input-Eigenschaften auszeichnen.

#### \* Triticale:

Aus 2000 Linien des Gülzower Triticalesortimentes wurden 160 mit hoher Amylaseaktivität z.T. in der ungewöhnlichen Kombination mit hohen Verkleisterungskurven (Fallzahlen) selektiert. 3 Linien zeichnen sich durch hohe Alpha- und Beta-Amylase-Aktivität und extrem niedrige Verkleisterungskurven aus.

#### \* Gerste:

An ausgewählten Gerstenmutanten wurden hinsichtlich der Stärkequalität (waxy- und ae-Formen) und des Autolysepotentials gute Ausgangspositionen zur Entwicklung von leistungsfähigen Sommer- und Wintergerstenmaterial nachgewiesen.

Bei Roggen, Triticale und Gerste sollte die Züchtung von Basismaterial mit verbesserter Auswuchsresistenz, mit Eignung als Malzsubstitut und veränderter Stärkezusammensetzung möglich sein.

#### \* Genbankmaterial (IPK Gatersleben):

Aus 119 Roggen- und 101 Triticalesippen, geprüft auf Rohstoff- und Stärkequalität, stehen Positivabweicher für die Entwicklung von Basismaterial zur Verfügung.

#### \*Anbauversuche:

auch mit gestaffelten Ernteterminen, ermöglichen den Vergleich der selektierten „Industrieformen“ mit aktuellen Sorten, die Überprüfung der entwickelten Analytik und die Bereitstellung von charakterisiertem Getreide sowie von Mehlen und Stärken für die im Getreidestärkeverbund integrierten Arbeitsgruppen.

#### Abstract:

Modified starch qualities, high potential of enzymes, reduced content and viscosity of nonstarch polysaccharides, and improved sprouting resistance, are necessary for isolation of special starches. For this reason a breeding relevant analytical system has been established and selected populations have been evaluated.

#### \*Rye:

From the population „Gülzow recessive short straw rye“ partial populations with very good sprouting resistance in the full ripening without visible germs, with reduced content and viscosity of pentosans, and with high kernel weight (TKW) have been developed. These populations

excel by high resistance to lodging, to powdery mildew and leaf rust, and by low input properties too.

\* Triticale:

From 2000 lines of Gülzow sortiment of triticale 160 lines with high activity of amylases, partly in an unusual combination with high gelatinization curves (falling number) have been selected. 3 lines excel by high alpha- and beta amylase activity and low gelatinization curves.

\* Barley:

With regard to starch quality (waxy- and ae-forms) and autolytical potential selected barley mutants proved to be good starting positions for developing efficient spring and winter barley materials.

Starting with rye, triticale and barley it should be possible to breed basis material with better sprouting resistance, with qualification as malt substitute, and modified starch composition

\*Material of genbank (IPK Gatersleben):

From 119 rye and 101 triticale tribes, tested for raw material and starch quality, positive deviating forms for the development of basic material are available.

With the help of field trails also with harvest in steps it is possible to compare selected industry-forms with actual varieties, and to test the developed analytical methods. By the way characterized cereals, flours, and starches for working groups, integrated in this current project, have been made available.

(BAZ-3308)

In Zusammenarbeit mit: Dill, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Täufel, Deutsches Inst. f. Ernährungsforschung, Rehbrücke; Thomann, Inst. f. Getreideforschung, Rehbrücke; Radosta, Fraunhofer Einrichtung für Angewandte Polymerforschung, Teltow-Seehof

112

#### 2.4. Erstellung von in ihren Anbaueigenschaften verbesserten Gerstengenotypen mit verändertem Amylose-Amylopektin Gehalt und analytischer Vergleich ihrer Stärken im Hinblick auf ihre spätere industrielle Verwertung,

##### Teil 1: Rohstoff- und Stärkeanalytik

**Breeding of barley genotypes with improved suitability for cultivation and with changed amylose/amylopectin contents. An analytical comparison of their starches with regard to a later industrial use,**

##### Part 1: Raw material and starch analysis

Flamme, W.; André, S.

*Methoden zur serienmäßigen Analyse der Rohstoff- und Stärkequalität von Gersten mit verändertem Amylose-Amylopektin Gehalt sollen adaptiert bzw. entwickelt werden. In Zusammenhang damit ist die Schaffung von Basismaterial mit verbesserten Anbaueigenschaften und erhöhtem Gehalt an Amylose und Amylopektin geplant. Besondere Beachtung soll die Verbesserung der Einsatzmöglichkeiten im Industriebereich finden.*

*Methods to analyse the quality of raw material and starch of barley genotypes with changed amylose/amylopectin content in series have to be developed and adapted, respectively. Thus the breeding of barley genotypes with improved suitability for cultivation and with increased amylose/amylopectin content is planned. Great emphasis is laid on the possibility of subsequent industrial use.*

Getreide erlangt für die Stärkegewinnung zunehmende Bedeutung. Das Verhältnis von Amylose/Amylopektin - in den konventionellen Stärken von 20/80 bis 25/75 - bestimmt maßgeblich die Eigenschaften der Stärke, wie Quell- und Verkleisterungseigenschaften, Viskosität des Kleisters, Löslichkeit, enzymatische Abbaubarkeit, und die Verarbeitbarkeit zu Folien und deren Eigenschaften. Es wurden bzw. werden Methoden entwickelt und adaptiert, die es gestatten, die Rohstoffqualität (Gehalt an Stärke- und Nichtstärkepolysacchariden, Proteingehalt, Kleisterviskosität, Aktivität stärkeabbauender Enzyme), die Stärkequalität (Korngrößenverteilung, Gehalt an Amylose bzw. Amylopektin, Verkleisterungseigenschaften, Proteingehalt) sowie die Stärkeausbeuten serienmäßig zu erfassen. Zunächst wurde die Rohstoff- und Stärkequalität eines Arbeitssortimentes von 'ae'- und 'waxy'-Mutanten im Vergleich zu aktuellen Sommer- und Wintergerstensorten geprüft. Das Verfahren der Stärkegewinnung aus Gerstenschrot im Labormaßstab wurde hinsichtlich Genauigkeit und Reproduzierbarkeit verbessert.

Das ist von Bedeutung, da das Amylose-Amylopektinverhältnis, die Korngrößenverteilung und die Verkleisterungsdaten gegenwärtig mit der erforderlichen Präzision nur an isolierten Stärken bestimmt werden können. Die Sensibilität und Selektivität der Jod-Stärke-Reaktion bilden die Grundlage einer Reihe von Methoden zur Bestimmung des Stärke- und Amylose-/Amylopektin Gehaltes. Dazu gehören der Blau- und R-Wert, Wellenlängenmaxima und die amperometrische Titration der Amylose mit Jod/KJ. Gegenwärtig steht die Untersuchung von 2- und 6-zeiligen Wintergersten, die aus Kreuzungen von Ausgangslinien mit verändertem Amylose- bzw. Amylopektin Gehalt mit Sorten hervorgegangen sind, sowie von Sommergerstenausgangsformen mit unterschiedlicher Stärkequalität im Vordergrund. Die auf naßchemischem Wege gewonnenen Daten der Rohstoff- und Stärkequalität sollen in der Perspektive zur Erstellung von NIR-NIT-Kalibrationen genutzt werden. Außerdem werden sich die Arbeiten zukünftig auf eine quantitative Isolierung von Stärken auch aus geringen Rohstoffmengen konzentrieren.

Abstract:

Aim of the current work is to compare analytically barley starches with changed amylose and amylopectin contents with regard to their later industrial use. Two and six row winter barley crossings from parent material with increased amylose or amylopectin contents, respectively, and spring barley genotypes with different starch quality are and will be analysed. Therefore it is necessary to

develop or adapt methods to characterise barley raw material concerning the contents of starch and non starch polysaccharides, proteins, viscosity and the activity of starch degrading enzymes and barley starches regarding their particle size distribution, contents of amylose and amylopectin and viscosity. Chemical data determined will be used to calibrate NIR and NIT instruments. Furthermore a method of isolating barley starches in laboratory from whole meal has been improved concerning its reproducibility and yield.

(BAZ-3328)

In Zusammenarbeit mit: Jacobi, Saatzucht Dr. h. c. R. Carsten, Bad Schwartau

113

## 2.5. Entwicklung und Anwendung von Methoden zur Analyse der Rohstoff- und Stärkequalität von Kartoffelbasis- und -zuchtmaterial sowie genetischer Ressourcen

**Development and application of methods to analyse the quality of raw material and starch of basic and breeding material and genetic resources of potatoes**

Jansen, G.

*Neben der Anwendung und Entwicklung spezieller naßchemischer Verfahren zur Rohstoffcharakteristik der Kartoffel soll eine umfassende physikalisch-chemische Untersuchung von Kartoffelstärken hinsichtlich Korngrößenverteilung, Verkleisterungseigenschaften und Viskositätsverhalten erfolgen, sowie eine Analyse verschiedener Inhaltsstoffe, wie z.B. Amylose, Amylopektin, Restprotein und Phosphat durchgeführt werden. Die auf naßchemischem Wege ermittelten Daten mit entsprechender Variationsbreite sollen zur Kalibrierung von NIR- und NIT-Geräten für eine züchtungsrelevante Analyse von Kartoffelausgangsmaterial genutzt werden.*

*In addition to the application and development of special classical chemical procedures to characterize the raw material of potatoes a complete physical and chemical investigation of potato starches such as particle size distribution, swelling, gelatinisation and viscosity properties, as well as the analysis of several components like amylose, amylopectin, restprotein and phosphate will be carried out. The data with relevant variability determined with classical chemical methods, will be used to calibrate NIR- and NIT-instruments for a breeding-relevant analysis of basis potato material.*

Für eine züchtungsrelevante Analyse von Kartoffelausgangsmaterial sollen Messungen im Nahen Infra Rot (NIR und NIT) genutzt werden. Die Kalibrierung dieser Geräte erfordert Analysendaten mit entsprechender Variationsbreite, die auf naßchemischem Wege ermittelt werden müssen. Dazu wird gegenwärtig ein Kulturkartoffelsortiment (n=120) und ein Wildkartoffelsortiment (n=228) der Genbank des IPK Gatersleben (Genbankaußenstelle Groß Lüsewitz) aus dem Jahre 1993 mit Standardmethoden untersucht. Es wurden bereits wichtige Inhaltsstoffe zur Charakterisierung des

Rohstoffes, wie z.B. Stärkegehalt, Trockenmassegehalt und Rohproteingehalt bestimmt und es erfolgt eine umfassende chemische und physikalisch-chemische Untersuchung der Kartoffelstärke, z.B. hinsichtlich Amylose-Amylopektingehalt, Korngrößenverteilung und Verkleisterungseigenschaften. Mit der Auswertung der Daten wurde begonnen.

Abstract:

For a breeding relevant analysis of basic potato (*Solanum*) material will be used the near infrared technique. To calibrate NIR and NIT instruments it is necessary to determine the contents of raw material and starches of potatoes with relevant variability with classical chemical methods. Therefore now will be analysed an assortment of cultivated and wild potatoes from 1993 to characterise the raw material concerning for example starch content and protein content and to carry out a complete physical and chemical investigation of potato starches such as particle size distribution, gelatinization properties, and amylose content.

(BAZ-3319)

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Schüler, Rothacker, IPK Gatersleben, Genbankaußenstelle Nord, Groß Lüsewitz

114

## 2.6. Transfer und gesteuerte Expression von Genen zellwandabbauender Enzyme in Pflanzen (Kartoffel als Modell) mit dem Ziel einer Verbesserung der Verarbeitungseignung der transgenen Pflanzen

**Transfer and expression of genes encoding cell wall degrading enzymes in plants (potatoes) to improve the processing quality of the transgenic plants**

Wegener, C.; Bartling, S.

*Ausgewählte Gene pektinolytischer Enzyme aus *Erwinia carotovora* werden mittels *Agrobacterium tumefaciens* in die Kartoffel (*Solanum*) übertragen. Mit der Kopplung der Kodierregion dieser Gene an den B33-Promotor des Patatin-Gens soll eine knollenspezifische Genexpression erreicht werden. Die Wirkung der rekombinanten Enzymproteine an der pflanzlichen Zellwand soll mittels Mazerationstesten und Elektronenmikroskopie untersucht werden. Mit einer Veränderung der Zellwandstruktur wird eine Verbesserung der Gewebetextur angestrebt.*

*Selected genes encoding pectolytic enzymes from *Erwinia carotovora* will be introduced into potatoes by means of *Agrobacterium tumefaciens* mediated gene transfer. In order to reach a tuber specific gene expression DNA regions encoding mature pectinases will be fused to the patatin B33 promotor sequences. The effect of the recombinant enzymes on plant cell walls will be investigated using macerating tests and electron microscopy. The change of the cell wall structure is thought of the basis for the improvement of the tissue texture.*

Das Pektatlyase-Isoenzym PL3 aus *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* baut spezifisch Pektine der pflanzlichen Mittellamelle ab und setzt Einzelzellen mit intakten Membranen aus dem Gewebe frei. Das Gen der PL3 ist an den Promotor des Patatin-Gens B33 und an den CaMV 35S-Promotor gekoppelt worden und nach Einbau in das Plasmid pBin19 mittels *Agrobacterium tumefaciens* in die Kartoffel, Sorte 'Desirée', übertragen worden. Von jedem Konstrukt stehen etwa 20 transgene Linien zur Verfügung, welche das Enzym stabil produzieren und sich im Niveau der Genexpression unterscheiden. Die Pflanzen wurden im Gewächshaus angezogen. Die Genexpression ist bisher mittels Western-Blotting und über die Bestimmung der PL-Aktivität in Extrakten aus den unterschiedlichen pflanzlichen Organen nachgewiesen worden. Während die mit dem Vektor pB33-PL3 transformierten Pflanzen das Enzym ausschließlich in den Knollen produzieren, ist die Expression in den p35S-PL3-transformierten Linien gewebeunabhängig. Die transgenen Pflanzen unterscheiden sich in ihrem Phänotyp nicht von den Kontrollpflanzen. Das Enzym wird in Abhängigkeit von dem verwendeten Promotor in den Zellen des Blatt- bzw. Knollengewebes produziert und gespeichert. In den transgenen Knollen wurde die größte Enzymmenge im parenchymatischen Gewebe gefunden. Das Enzymprotein bleibt während der Lagerung der Knollen weitgehend erhalten. Mittels Antibody-Gold-Labeling (PL3-Antikörper aus Kaninchen) wurde nachgewiesen, daß das PL-Enzymprotein vornehmlich auf den Stärkekörnern lokalisiert ist, während geringere Mengen in der Zellwand und im Cytoplasma gefunden wurden. Das Enzym wird nach Wundsetzung aus den Zellen freigesetzt. Es bewirkte nach Inkubation von Knollengewebescheiben für 16 h bei 25 °C zwischen feuchtem Filterpapier in Abhängigkeit vom Grad der PL-Expression eine Mazeration des Gewebes. Die Membranzerstörung wurde mit einem Mazerationstest, basierend auf der Vitalfärbung, und durch Messung der Zunahme der Leitfähigkeit in Extrakten von inkubierten Gewebescheiben transgener Kartoffelknollen nachgewiesen. Sofern keine gezielte Inkubation unter feuchten Bedingungen erfolgte, wurde an den Gewebeschnitten eine verstärkte Wundperiderm-Bildung beobachtet. Weiterhin wurde festgestellt, daß eine konstitutive Expression der PL3 im pflanzlichen Gewebe offensichtlich Abwehrreaktionen gegen *E. carotovora* induziert. Die nach Inkubation mit *E. carotovora* am Gewebe PL-aktiver transgener Knollen verursachte Gewebemazeration war signifikant reduziert ( $\alpha = 0.01$ ) gegenüber den PL-inaktiven Knollen. Diese Ergebnisse beziehen sich ausschließlich auf Gewächshauspflanzen und müssen in Feldversuchen weiter untersucht werden.

**Abstract:**

Pectic polysaccharides are main components of plant cell walls. The expression of a gene encoding a pectate lyase isoenzyme (PL) from *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* in transgenic potatoes was investigated. The enzyme was accumulated in the cells and caused

maceration of the tissue after wounding. Tissue of PL active transgenic potato tubers was more resistant against maceration caused by *E. carotovora*.

(BAZ-3311)

In Zusammenarbeit mit: v. Wettstein, Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, Dänemark; Willmitzer, Inst. f. Genbiologische Forschung, Berlin.

115

**2.7. Etablierung züchtungsrelevanter biochemischer Methoden zur Charakterisierung der Struktur und Stabilität pflanzlicher Zellwände (Modell: Kartoffel)**

**Establishment of breeding relevant biochemical methods for the characterization of the structure and stability of plant cell walls (Model: Potato)**

Wegener, C.

*Mit komplexen zellwandlytischen Enzymen aus Erwinia carotovora und mit rekombinanten Pektatlyase-Isoenzymen werden die Zellwände pflanzlicher Gewebe (Modell: Kartoffel) partiell lysiert, und es wird der Grad der Gewebemazeration gemessen. Der Einfluß von Sorte und spezifischen Anbaubedingungen auf die enzymatische Abbaubarkeit der Zellwände wird betrachtet. Ihre Beziehung zur Stabilität der Zellwände im Anbau und der Rohstoffverarbeitung, welche von Bedeutung ist für Schwarzfleckigkeits- und Verfärbungsneigung, Kochtyp und Geweberesistenz, wird untersucht.*

*Complex cell wall degrading enzymes from Erwinia carotovora and recombinant pectate lyase isoenzymes will be used for partial degradation of plant cell walls (Model: potato) and the degree of tissue maceration will be measured. The influence of cultivar and growth conditions on the sensitivity of cell walls to enzyme action will be characterized. The relations to the stability of cell walls during cultivation and processing of plant material, important with respect to the tendency for black spot formation, discolouration, cooking quality, and tissue resistance will be investigated.*

Es konnte nachgewiesen werden, daß sich auf der Grundlage der Neutralrot-Vitalfärbung mit anschließender Extraktion des Farbstoffes die durch Enzymwirkung verursachte Zellwandlyse sehr gut messen läßt. Die Enzyme werden mittels Vakuum (200 mbar) in die Interzellularen von Gewebescheiben aus Kartoffelknollen infiltriert, und nach einer Inkubationszeit von 30 min bei 25 °C wird der Zellwandabbau gemessen (OD<sub>535nm</sub>). Unter konstanten Bedingungen bei gleicher Enzymkonzentration konnte mit zunehmender Inkubationszeit ein linearer Anstieg der Zellwandlyse nachgewiesen werden. Die Methode ist im Labor etabliert worden (Standardabweichung:  $\leq 2\%$ ). Aus einem Feldversuch (Anbau 1994) sind inzwischen 30 Sorten im Hinblick auf die enzymatische Abbaubarkeit ihrer Zellwände untersucht worden, gleiche Untersuchungen für das Erntejahr 1995 laufen gegenwärtig. Es konnte nachgewiesen werden, daß sich die einzelnen Kartoffelsorten sehr deutlich in der „Stabilität“ ihrer Zellwände gegenüber lytischen

Enzymen unterscheiden. So zeigte sich bei der als mehlig kochend bekannten Sorte 'Adretta' (auch anfälliger gegenüber *Erwinia carotovora*) nach einer Inkubationszeit von 30 min mit dem Enzymgemisch ein Mazerationsgrad (=Zellwandlyse) von 61% , während bei der Sorte 'Bintje' unter gleichen Bedingungen nur ein solcher von 28 % gemessen wurde. Die Differenzen sind ganz offensichtlich auf sortenbedingte Unterschiede in der Zellwandstruktur, der Art der Vernetzung der einzelnen Zellwandpolysaccharide und der Zellwandzusammensetzung zurückzuführen. Es zeigte sich weiterhin, daß die Stickstoff-Düngung Einfluß auf die enzymatische Abbaubarkeit der Zellwände hat. Kartoffelknollen (17 Sorten), die auf einem mit nur 40 kg N/ha gedüngten Versuchsfeld angezogen wurden, waren signifikant resistenter gegenüber der zellwandlytischen Wirkung der Enzyme von *E. carotovora* als Knollen, die mit einer N-Gabe von 80 kg/ha versorgt wurden.

**Abstract:**

The quality, the processing properties and also the resistance of plant raw material are dependent on the content, the composition, the structure of plant cell walls and the interconnection of cell wall components. Cell walls of potato tuber tissue were partially degraded using standard enzyme preparations including pectinases, cellulases and proteases from *Erwinia carotovora*, and the degree of cell wall lyses was measured. It was shown that enzymic cell wall degradation was cultivar dependent and influenced by the amount of nitrogen fertilization during growing the plants.

(BAZ-3318)

In Zusammenarbeit mit: Schüler, IPK Gatersleben, Genbankaußenstelle Nord, Groß Lüsewitz; Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtsch. Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz.

116

**2.8. Entwicklung und Etablierung vorwiegend chromatographischer Methoden zur Analyse von Nichtstärkepolysacchariden zur züchterischen Verbesserung der Qualität von Getreide und Kartoffeln für den Nahrungs-, Futter- und Industriebereich**

**Development and establishment of chromatographical methods in order to analyze non-starch-polysaccharides and to improve the food, feed and non-food quality of cereals and potatoes**

Jürgens, H.-U.

*Nichtstärkepolysaccharide (NSP) haben Bedeutung für die gesunde Ernährung und in der präventiven Krebsprophylaxe beim Menschen, als toxische Verbindungen im Futter und als Störfaktoren bei der industriellen Verwertung von Getreide und Kartoffeln. Über die Bestimmung des Gehaltes und der Kaltquellung im Rohmaterial hinaus sind das Molekulargewicht, die Zusammensetzung und die Viskosität der isolierten NSP wichtige Eigenschaften für die Evaluierung genetischer Ressourcen und für die Züchtung von Basismaterial.*

*Non-starch-polysaccharides (NSP) are important components for wholesome human food, in preventive anti-cancerous human medicine, as toxic components in forage and as interference factor of industrial use of cereals and potatoes. In addition to determination of NSP content and cold swelling behavior of raw materials the molecular weight, composition and viscosity of the isolated NSP are important properties for evaluation of genetic resources and breeding of basis material.*

Als wichtige Nichtstärkepolysaccharide werden im Roggen und Triticale die Pentosane und in der Gerste die  $\beta$ -Glucane gefunden. Die Pentosane bestehen aus den beiden Hauptkomponenten Xylose und Arabinose und zeichnen sich durch ein sehr hohes Wasserbindevermögen und Bildung hochviskoser Lösungen aus. Zur quantitativen Erfassung der löslichen und der Gesamtpentosane wurde ein automatisches Fließverfahren unter Verwendung eines stark salzsauren Orcin-Reagenz' aufgebaut und mit Xylose als Bezugs- und Eichsubstanz kalibriert. Die löslichen Pentosane werden aus wäßrigen Extrakten der eingesetzten Schrote ermittelt. Zur Analyse der Gesamtpentosane ist zunächst ein teilweiser Abbau durch saure Hydrolyse vorteilhaft. Die Zusammensetzung der Pentosane mit den Bausteinen Xylose und Arabinose läßt sich nach vorhergehender Hydrolyse und Reduzierung der sich bildenden Zucker gaschromatographisch als Alditolacetate gut ermitteln. Mit Hilfe dieser Methoden wurde mit der Evaluierung der genetischen Ressourcen begonnen.

**Abstract:**

It was established an automatic method for determination of water soluble and total pentosans by continuous flow analyzer for evaluation of genetic resources. The composition was obtained by GC analysis of the alditol acetates.

(BAZ-3323)

117

## Institut für Resistenzgenetik Institute for Resistance Genetics Grünbach

Ziel aller Institutsarbeiten ist es, Ausgangsmaterial für die Züchtung dauerhaft gesunder Pflanzen zu erstellen. Dabei ist im Forschungskonzept das verzahnte Vorgehen mit Verfahren klassischer Züchtung, der Zellkultur und der molekularen Diagnostik der methodische Zentralgedanke. Entsprechend diesem Konzept werden Ergebnisse erarbeitet, die es dem Landwirt erlauben, die politische Vorgabe des integrierten Pflanzenbaus in einer umwelt- und ressourcenschonenden Landwirtschaft umsetzen zu können.

Im Einzelnen werden dazu bei Gerste, Weizen und Mais mit klassischer Kombinationszüchtung Resistenzen vor allem gegen Schadpilze in Kulturformen eingelagert. Der klassische Weg wird durch Zellkulturverfahren beschleunigt, wobei auch die Kartoffel als vegetativ vermehrte Fruchtart in die Forschung einbezogen ist. Voraussetzung für den Resistenzaufbau ist die Verfügbarkeit von Infektions- und Diagnostiktechniken. Sie wurden für die Schadpilze *Fusarium*, *Pseudocercospora*, *Pyrenophora*, *Rhynchosporium* und *Septoria* bei Gerste, Mais oder Weizen sowie für das Gelbmosaikvirus der Gerste erarbeitet. Im Bereich der Selektion gewinnen jetzt molekulare Sonden große Bedeutung. Dazu erfolgen Feinkartierungen und Gen- sowie Funktionsanalysen von Resistenzgenen der Gerste. Die erforderliche DNA-Sondenbank wird in Grünbach seit 1990 weltweit für die Gerste ausgebaut, erhalten und in einer Datenbank verwaltet.

The over-riding objective of the research performed at the institute is the generation of genetic stocks with improved disease resistance. This is achieved by an integrated approach combining classical cross breeding with cell culture and molecular diagnosis. The development and realization of this concept forms the basis to conform to the political guidelines for an integrated plant production saving both, environment and resources.

To this end, genes conferring resistance to various parasitic fungi are bred into barley, wheat, and corn by means of conventional cross breeding. This classical method is accelerated by the application of cell and tissue culture techniques, with potato being included as a vegetatively propagated crop. A prerequisite for the successful combination of resistance genes is the availability of appropriate techniques for artificial infection and diagnosis. Corresponding procedures were developed for the parasitic fungi *Fusarium*, *Pseudocercospora*, *Pyrenophora*, *Rhynchosporium*, and *Septoria* in barley, corn, and wheat as well as for barley yellow mosaic virus in barley. Regarding selection, molecular probes represent a diagnostic tool of increasing significance. For that purpose both fine scale mapping and functional analyses of resistance genes are carried out in barley. Complementary, an international DNA probe repository has been established in Grünbach in 1990 and is being administered and extended together with a data base.

### 1. Klassische Züchtungsmethoden Conventional breeding methods

#### 1.1. Züchterischer Aufbau von quantitativen Resistenzträgern in Weizen gegen *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, *Fusarium culmorum* und *Fusarium graminearum*

**Breeding for quantitative resistance in wheat to *Septoria nodorum*, *Septoria tritici*, *Fusarium culmorum*, *Fusarium graminearum***

Walther, H.

*und kurzen Sorten Gene für eine oder mehrere Resistenzen durch gezielte Kreuzungen einzulagern, zu kombinieren und dadurch die Höhe der Resistenz gegen einen oder mehrere Krankheitserreger soweit anzuheben, daß chemischer Pflanzenschutz verzichtbar wird.*

*The breeding aim in programmes for quantitatively inherited resistances in wheat is to increase the resistance to one or more diseases by specific combinations to such an extent that chemical protection is no longer necessary. At the same time the high yield of the early and short cultivars must be maintained.*

*Ziel der quantitativen Resistenzzüchtung in Weizen ist es, unter Beibehaltung eines hohen Ertragsniveaus in frühen*

Um durch Auslese von resistenzverbesserten Genotypen einen Selektionsfortschritt zu erreichen, sind einige Voraussetzungen zu erfüllen:

1. Das Zuchtziel muß klar definiert sein. In den vorliegenden Versuchsergebnissen wurde eine Selektionstechnik erarbeitet, mit der bei Erhalt von Ertrag, Frühreife und kurzen Halmlängen simultan auf Resistenzen gegen mehrere Pathogene ausgelesen werden kann, hier auf *Septoria nodorum* (SN), *S. tritici* (ST), *Fusarium culmorum* (FC) und *F. graminearum* (FG). FG und ST wurden erstmals mit in die multiple Resistenzanalyse einbezogen. Die Technik der mehrfachen Infektions- und Resistenzanalyse hat in der Selektionsphase gegenüber einer Einzelresistenzanalyse den Vorteil, daß

- auch Resistenzgene mit gleichzeitiger Wirkung gegen mehrere Pathogene erfaßt werden,
- die Wechselwirkungen der Pathogene untereinander und mit den Wirtsgenotypen sowie ihr gemeinsamer Einfluß auf den Ertragsverlust mit berücksichtigt werden,
- der Selektionsaufwand um zahlreiche in Serie aufgebaute Selektionszyklen vermindert wird, wodurch die Selektionseffizienz ganz wesentlich gesteigert werden kann,
- die Technik praxisbezogen ist, da sie unter feldtechnischen Bedingungen eingesetzt werden kann.

2. Die genetische Resistenzvariation muß für eine wirksame Selektion für jede einzelne Resistenzeigenschaft ausreichend breit sein. Dazu wurde ein entsprechendes Elternsortiment über 3-jährige Vorprüfungen erstellt und über mehrstufige Kreuzungskombinationen zur Anreicherung quantitativer Resistenzeffekte genutzt. 1995 wurde ein Sorten- und Liniensortiment von 84 Genotypen geprüft.

3. Die Selektion der erstellten Kreuzungsnachkommenschaften basiert auf Resistenzprüfungen, die unter Feldbedingungen mit gezielten Sporeninokulationen und mehrfachen Bonituren während der Vegetationsperiode durchgeführt wurden. Die Prüfungen waren dabei in 2-reihigen Kleinparzellen (0,54 m<sup>2</sup>) angelegt, je 6 Parzellen mit 2 Wiederholungen für jeden Genotyp, wobei die 4 Einzelpathogene (SN, ST, FC, FG) jeweils getrennt und in einer Parzelle gemeinsam gegen die Kontrollparzelle geprüft wurden. Die biotechnische Optimierung von Infektions- und Selektionstechniken in einem Zuchtprogramm standen dabei im Vordergrund. Der Versuch wurde als 2-faktorielle Split-plot-Variante angelegt. Von besonderem Interesse sind dabei die multiplen Resistenzwerte im Vergleich zu den unter nichtinfizierten Bedingungen erzielten Ertragsleistungen. Die genetische Streuung dieser beiden Selektionsparameter trifft genau das allgemein züchterische Selektionsziel von Gesamtresistenz und Ertragsleistung. Die aus den Vorjahren gewonnenen Ergebnisse an Leistungsprüfungspartellen (5 m<sup>2</sup>) wurden 1995 erweitert um Prüfungen in Kleinparzellen (0,54 m<sup>2</sup>), wobei als Bezugsgröße der Kornertragsverlust durch das 20-Ährgewicht ersetzt wurde. Die Übertragung der Infektions- und Selektionstechnik auf Kleinparzellen ermöglicht eine vielfach größere

Prüfkapazität und die Auslese von Kreuzungsnachkommenschaften in frühen Generationen.

4. Die multiplen Resistenzwerte unter offenen Prüfbedingungen werden durch Unterschiede in Reifeverhalten und Halmlängen zwischen den Genotypen überlagert. Zur Erfassung der Resistenzwerte ohne Überlagerungseinflüsse, sowie zur gleichzeitigen Berücksichtigung der Interaktionen aller beteiligten Prüfpathogene wurde eine multiple Regressionsgleichung eingesetzt, die für jeden geprüften Genotyp einen Gesamtresistenzwert liefert, basierend auf der Zuordnung der Einzelbefallswerte zu den Ertragsverlustwerten bzw. zu den 20-Ährgewichtsverlusten. Dabei wurden die Einzel-Befallswerte der geprüften Pathogene als Mittelwerte (Ährenbefall) oder als gewichtete Mittelwerte (Blattbefall) über 4 bzw. 5 Bonituren als epidemiologisch ertragsrelevante Werte ermittelt.

Die Auswertung der Prüfungen hat zu folgenden Ergebnissen geführt:

a) Die Auslösung eines ausreichend starken Infektionsverlaufes ist nicht nur für SN und FC, sondern auch erstmals für ST und FG unter Feldprüfbedingungen gelungen. Die Produktion eines in Menge und Pathogenität ausreichenden Inokulums war hierfür Voraussetzung.

b) Auch für die Bewertung des Ertragsverlustes in Kleinparzellen anhand des 20-Ährgewichtes wurde eine ausreichend hohe Korrelation von  $r = 0,76^{**}$  zu den Mehrfachbefallswerten ermittelt. Damit wurde eine klare Abhängigkeit des Ertrages von den Befallsverläufen nachgewiesen.

c) Gleichzeitig wurde eine hohe Variabilität festgestellt sowohl für die multiplen Befallswerte (40 %...83 %) als auch für die 20-Ährgewichtsverluste (29 %...87 %). Erfahrungsgemäß sinken bei der Integration weiterer Pathogene in Resistenzprüfungen die Variabilitätswerte der gemeinsamen Resistenzreaktionen. Die Variabilität war hier jedoch bei Integration von 4 Krankheiten noch ausreichend hoch und ermöglichte einen signifikanten Selektionserfolg.

d) Diese Ergebnisse waren aus der Ermittlung der Resistenzdaten sowohl für die gemittelte Einzelresistenzprüfung als auch für die multiple Resistenzprüfung nahezu identisch mit einer Korrelation von  $r = 0,87^{**}$ . Das bedeutet, daß für die multiple Resistenzprüfung bereits eine Mehrfachinfektionsparzelle und eine Kontrollparzelle ausreichen, um die genetische Gesamtresistenzvariabilität signifikant zu erfassen.

e) Die Selektionsrate signifikanter Stämme mit multipler Resistenz lag bei 18 %.

f) Einige Zuchtstämme weisen gute Resistenzwerte gegen einzelne Pathogene auf, einige jedoch auch eine hohe multiple Resistenz gegen alle 4 geprüften Pathogene. Daraus ist zu erkennen, daß unter den quantitativ steuernden Resistenzgenen zumindest einige pathogenübergreifend Resistenz vermitteln, andere hingegen pathogenspezifisch wirken. Daß in Einzelfällen auch zusätzlich qualitative Resistenzgenreaktionen wirksam sein können, ist aus den Abweichungswerten der multiplen Regressionsanalyse zu erkennen. Diese Wirt-Pathogen-

spezifischen Gen-Gen-Wechselwirkungen werden aber in diesem Selektionsprogramm nur dann mitgenutzt, wenn sie einen guten multiplen Resistenzwert unterstützen.

g) Die genetische Variabilität der multiplen Blatt- und Ährenresistenz läßt eine Selektion auf verschiedene Zuchtziel-Schwerpunkte zu, z. B.:

- verbesserte Resistenz bei verminderter Ertragsleistung,
- verbesserte Resistenz bei konstanter Ertragsleistung,
- verbesserte Resistenz bei verbesserter Ertragsleistung,
- konstante Resistenz bei verbesserter Ertragsleistung,
- verminderte Resistenz bei verbesserter Ertragsleistung.

Für die Zielsetzung, hochresistente Linien als Resistenzträger aufzubauen, sind hier nur die drei erstgenannten Schwerpunkte von Interesse. In diesem Variationsbereich lagen 8 signifikant verbesserte Zuchtstämme.

h) Ein Vergleich der Ähnlichkeit von Befalls- und Resistenzaufbau zwischen *F. culmorum* und *F. graminearum* ergab eine hohe Korrelation von  $r = 0.89^{**}$ , jedoch mit dem stärkeren Befallsbild für FC (33 %) (20 % FG). Anders liegen die Befallsentwicklungen von SN und ST, die mit  $r = 0.57^{**}$  deutlich weniger korrelieren und daher weniger gemeinsame genetische Resistenzen besitzen. Hier war die stärkere Befallsentwicklung durch ST erfolgt (57,2 %) (31,5 % SN).

#### Abstract:

It became possible to inoculate artificially wheat in the field at the same time with *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, *Septoria nodorum*, and *S. tritici*. The variability was high enough even for the four diseases to allow a significant success in selection. It became clear that for a multiple resistance test one plot with multiple inoculation and a control plot are sufficient to measure the total genetical variability. 18 % of the lines tested revealed a significant multiple resistance. It became evident that in such a multiple system with different quantitative genes some are specific for one disease while others react more general.

(BAZ-7121, 7122, 7124, 7125)

118

#### 1.2. Erstellung von Zuchtmaterial gegen den Erreger der Halmbruchkrankheit (*Pseudocercospora herpotrichoides*) bei Weizen

**Production of wheat genotypes carrying resistance to the causal agent of the eyespot disease (*Pseudocercospora herpotrichoides*)**

Lind, V.

Zwei Zuchtrichtungen werden verfolgt: die Erstellung von Genotypen mit (1) qualitativer Resistenz und (2) quantitativer Resistenz. Bei (1) wird als Resistenzquelle das Gen *Pch-1* verwendet, dessen Anwesenheit im Zuchtmaterial über den Endopeptidase-Nachweis geprüft wird. Bei (2) werden weltweit aus Sorten und Zuchtmaterial der Weizenzüchter mittels eines serologischen Tests (ELISA) Genotypen mit quantitativer Resistenz selektiert. Deren Resistenzgene werden durch Mehrfachkreuzungen akkumuliert. Die Prüfung der Linien mit verbesserter Resistenz erfolgt im homozygoten Zustand

(Haploidenmethode). Quantitative und qualitative Resistenzen werden dann durch Kreuzung der besten Linien kombiniert.

Two breeding aims are pursued: The production of genotypes with (1) qualitative and (2) quantitative resistance. In the first project (1) the gene *Pch-1* is used as a source of resistance. It will be identified by staining of the endopeptidase-marker. In (2) cultivars collected from all over the world and genotypes from wheat breeders are screened by an ELISA. The resistance genes of selected material are accumulated by multiple crosses. The lines carrying quantitative resistance were tested in the homozygous stage after a haploid step. The most resistant lines are used to combine quantitative and qualitative resistance.

Homozygote Weizenlinien wurden 1995 im Gewächshaus und im Feld angebaut und auf Resistenz gegen *Pseudocercospora herpotrichoides* getestet. Im Gewächshaus wurden die Pflanzen 10 Wochen nach künstlicher Infektion zu Beginn des Bestockens (Stadium 21) abgeschnitten und die unteren 3 cm des Triebes über dem Wurzelansatz als Pflanzenprobe verwendet. Die Messung der Befallsstärke der Pflanzen erfolgte mit dem ELISA. Der Resistenztest wurde in dreifacher, der ELISA in zweifacher Wiederholung durchgeführt.

Alle für den Test verwendeten Linien besaßen das Resistenzgen *Pch-1*, von dem im Jugendstadium eine deutliche Resistenzwirkung erwartet wird. Zum Vergleich waren in den Versuch sowohl anfällige Kontrollen als auch Linien ohne das Resistenzgen, aber mit quantitativer Resistenz, aufgenommen worden. Der Extinktionswert, der die Befallsstärke angibt, zeigte eine große signifikante Variation zwischen den Extremwerten 0,913 (anfällige Sorte 'Granada') und 0,093 (beste resistente Linie). Etwa 10 % der 142 Genotypen unterschieden sich nicht signifikant von 'Granada', obwohl sie das Gen *Pch-1* besitzen. Die resistentesten Linien entstammen alle der direkten Kreuzung zwischen dem Gendonor *Aegilops ventricosa* und dem Kulturweizen *Triticum aestivum*. Auch bei den anderen Linien führen genetische Verwandtschaften, z. B. die Abstammung aus der gleichen Kreuzung, zu ähnlichen Resistenzgraden. Dadurch ergeben sich signifikante Unterschiede zwischen Familien, die Unterschiede innerhalb der Familien sind jedoch in keinem Fall signifikant. Dieses Ergebnis bestätigt, daß der Effekt des Resistenzgens *Pch-1* durch Interaktionen mit dem genotypischen Hintergrund in erheblichem Maße variiert werden kann.

Die Linien mit quantitativer Resistenz variierten zwischen den Werten 0,705 und 0,416. Sie waren damit signifikant besser als die anderen Sorten bzw. Linien ohne Resistenzgen. Ihr Befallsgrad im Vergleich zu den anfälligen und *Pch-1*-Genotypen in den entscheidenden späteren Stadien ergibt sich aus der Feldprüfung.

Alle Genotypen wurden auch im Feldversuch angebaut und Proben in den Stadien 40 und 75 entnommen. Als Versuchsanlage wurde eine Spaltanlage mit dreifacher Wiederholung gewählt. Die künstliche Inokulation der

Prüfglieder erfolgte in zwei verschiedenen Intensitäten. Die serologische Untersuchung der Genotypen aus dem Feldanbau wird im Winter 1995/96 durchgeführt.

**Abstract:**

Homozygous wheat lines carrying the resistance gene *Pch-1* were tested for their resistance to *Pseudocercospora herpotrichoides* in the greenhouse and in field trials. Lines without the gene (susceptible as well as quantitatively resistant) were included as standards. In the greenhouse, there was a significant variation of disease severity (ELISA values) at stage 21. About 10% of the genotypes did not differ from the susceptible cultivar 'Granada'. The most resistant lines originate from direct crosses between *Aegilops ventricosa* and *Triticum aestivum*. Comparisons between related and not-related genotypes clearly demonstrate the role of the genotypic background on the effect of *Pch-1*. Quantitatively resistant lines had medium ELISA values. In field tests plant samples were taken at growth stages 40 and 75. The serological measurements will be carried out in winter 1995/96.

(BAZ-7127)

In Zusammenarbeit mit: Saatzucht Strube, Söllingen; Saur, Cavelier, INRA, Le Rheu, Frankreich

119

### 1.3. Züchtung auf Resistenz gegen *Rhynchosporium secalis* in Wintergerste mit Hilfe moderner Züchtungsstrategien

**Breeding for resistance against *Rhynchosporium secalis* in winter barley using new strategies**  
Foroughi-Wehr, B.

Das Auftreten einer Blattfleckenkrankheit, verursacht durch den Pilz *Rhynchosporium secalis*, kann bei starkem Befall in der Wintergerste zu hohen Ertragsverlusten führen. Resistenzzüchtung würde den Einsatz von Fungiziden verringern und größere Ertragssicherheit bringen. Da es sich um ein quantitativ vererbtes Resistenzmerkmal handelt, müssen Methoden zur genauen Erfassung dieser quantitativen Unterschiede entwickelt werden. Darüberhinaus müssen Resistenzquellen gefunden werden, die sich in deutsches Material einlagern lassen. Die Ermittlung des Pathotypenspektrums und dessen Reaktion auf ein Testsortiment führen schließlich zu den genetischen Grundlagen der Resistenz.

Leaf blotch caused by the fungus *Rhynchosporium secalis* is a serious disease in winter barley and could lead to high yield losses. Resistance breeding is a reliable basis for reducing fungicide application and stabilizing yield height.

Die Überprüfung und Verbesserung des ELISA-Testes zur Ermittlung quantitativer Resistenzunterschiede bei *Rhynchosporium secalis* stand im Mittelpunkt der Untersuchungen. Bereits 1994 konnte nachgewiesen werden, daß der ELISA-Test auf Befall von *R. secalis* an Wintergerste auch an Freilandmaterial einsetzbar ist. Es besteht

eine Korrelation zwischen der visuellen Bonitur und den Meßwerten des ELISA.

Bei der Probenahme im Feld wurden einmal einzelne Blattproben aus einer Parzelle getestet und gleichzeitig eine Mischprobe aus mehreren Blättern gemessen. Es zeigte sich, daß keine signifikanten Unterschiede in der Art der Probenahme bestehen. Es steht somit eine wenig aufwendige Nachweismethode zur Verfügung, die auch dann anwendbar ist, wenn zusätzlicher Befall von anderen Pilzen vorliegt.

Die Empfindlichkeit des ELISA-Tests wurde an Sämlingen untersucht, die künstlich inokuliert wurden. Dabei handelte es sich um Sorten bzw. Linien mit bekannter Reaktion auf *Rhynchosporium*. Es wurden zwei ELISA-Messungen durchgeführt: die 1. zum Zeitpunkt des Sichtbarwerdens der ersten Symptome an der anfälligsten Sorte (18 Tage nach Inokulation), die 2. zum Zeitpunkt des vollständigen Befalls aller Pflanzen dieser Sorte (24 Tage nach Inokulation). Gleichzeitig wurden die Pflanzen visuell von 1...9 bonitiert.

Die Abbildung 1 zeigt die Ergebnisse der beiden Bonituren und Messungen. Auch hier stimmen die Bonituren mit den ELISA-Messungen überein, mit Ausnahme der Linien 7 und 18, bei denen die erste Bonitur keine Symptome (Note 1) zeigte, während die ELISA-Werte, verglichen mit den übrigen symptomfreien Linien (14 und 22), relativ hoch waren.

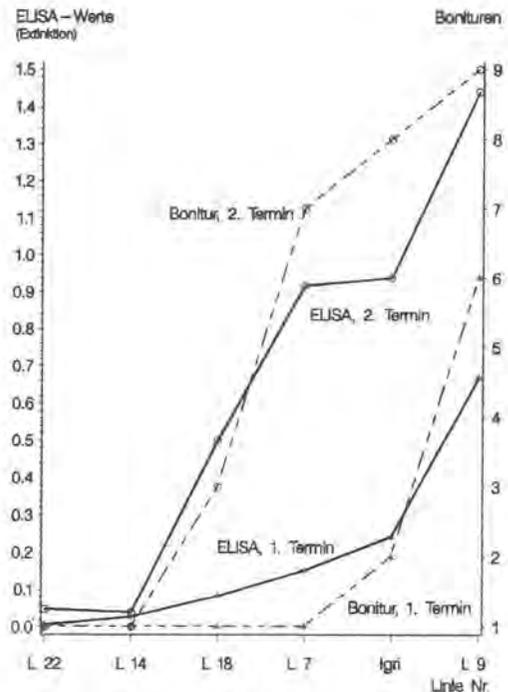


Abb. 1: Bonitur und ELISA-Messung an Gerstensämlingen 18 bzw. 25 Tage nach künstlicher Inokulation mit *Rhynchosporium secalis* (5 Pflanzen pro Messung)

Eine Erklärung für diese Abweichungen findet man in den Ergebnissen der 2. Bonitur bzw. Messung. Hier zeigt Linie 7 einen hohen Befall und gleichzeitig entsprechend

hohe ELISA-Werte; Linie 18 zeigt einen mittleren Befall mit mittleren ELISA-Werten. Aus diesem Befund wird deutlich, daß eine sehr frühe Befallsdiagnose bei *Rhynchosporium* mit Hilfe der ELISA-Messung möglich ist. Gleichzeitig lassen sich auch quantitative Befallsunterschiede feststellen.

**Abstract:**

For *Rhynchosporium secalis* an effective ELISA screening method for detecting of quantitative differences in resistance has been developed. With this procedure sources of resistance have been found and are introduced into German winter barley material. The identification of different pathotypes using a barley test set will give information about the genetics of resistance.

(BAZ-7104)

In Zusammenarbeit mit: Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben

120

**1.4. Züchterischer Aufbau von quantitativen Resistenzen in Mais gegen Maisstengelfäule. 1. Phase: Erstellung von Prüf- und Selektionstechniken**  
**Breeding for quantitative resistance in corn to corn stalk rot. 1. phase: Establishing of test and selection techniques**

Walther, H.

*An Maisstengelfäule ist eine Gruppe von Fusarium-Arten beteiligt. Beim Aufbau resistenter Mais-Inzuchtlinien und -Hybriden ist die Bedeutung der beteiligten Fusarium-Arten in ihrer Pathogenität auf Mais zu untersuchen. Für die stark pathogenen Arten sind ausreichende Erregerpopulationen zu erstellen und Infektions- und Befallserfassungsmethoden für Feld- und Gewächshausprüfungen aufzubauen. Die Effizienz von Selektionsverfahren in frühen und späteren Entwicklungsstadien ist zu untersuchen.*

*Corn stalk rot is caused by a group of Fusarium species. In breeding for resistant corn inbred lines and hybrids the relevance of the contributing Fusarium-species with their specific pathogenicity has to be elaborated. For the higher pathogenic species sufficient pathogen-populations have to be established and infection and disease assessment techniques for field and greenhouse tests have to be developed. The efficiency of selection techniques in early and late stages of plant development has to be tested.*

Für die Prüfung von Mais-Genotypen auf Stengelfäule-Verhalten wurden 6 Infektionsverfahren entwickelt, die mit einem 3-faktoriellen Split-plot-Versuch an 6 Mais-sorten unterschiedlicher Anfälligkeit getestet wurden, und zwar je mit 3 Erregerpopulationen von *Fusarium culmorum* (FC), *F. graminearum* (FG) und *F. avenaceum* (FA). Die Infektionen wurden zum Zeitpunkt der Aussaat und ab der Blüte an Stengelbasis und Kolben gesetzt und nach Abreife ausgewertet mit folgenden Ergebnissen:

1. Frühe Infektionen zum Zeitpunkt der Aussaat bewirken nur unterschiedliche Auflaufsraten, aber keine Stengelinfektionen. Die Auflaufsraten lagen zwischen 60 % und 92,5 %, je nach Infektionstechnik und Sorte.
2. Sortenunterschiede im Hinblick auf Anfälligkeit im Keimstadium, im Befallsgrad der Stengelfäule und im Ausmaß der Kolbenfäule sind vorhanden, jedoch waren alle Befallswerte bisher nur in einem mittleren Bereich mit mittlerer Streuung beobachtet worden. Der Kolbenbefall schwankte zwischen 2,4 % und 23,5 %, wobei offensichtlich Infektionen auch über die Narbenfäden auf Körner und Kolbenspindel erfolgen. Die Stengelfäulewerte lagen allgemein niedrig (0 %...35 %), zeigten aber erkennbare Unterschiede zwischen Sorten und Infektionstechniken.
3. Der Befall mit Kolbenfäule wurde auch über eine Korngewichtsbestimmung der befallenen Kornanteile ermittelt. Die gefundene Korrelation zur Befallsbonitur war mit  $r = 0.97^{**}$  sehr hoch.
4. Die untersuchten Erregerpopulationen von FC, FG, FA zeigten ebenfalls Unterschiede in den mittleren Infektionsstärken. Der Befall an Stengel und Kolben war durch FC am höchsten, gefolgt von FA und FG.

**Abstract:**

Six infection techniques were established to test 6 corn genotypes for reactions to corn stalk rot, using pathogen populations from *Fusarium culmorum*, *F. graminearum*, and *F. avenaceum*. Infections were induced during planting and at flowering and disease development was checked at harvest. Early infections at planting caused only reductions in seedling emergence. Differences in disease susceptibility between varieties were observed for stalk and cob infections with an intermediate range of variation. Also the rate of diseased kernels was checked which was found to correlate well with visual disease ratings ( $r = 0.97^{**}$ ). Differences in pathogenicity were found for the three different pathogen populations with *F. culmorum* and *F. avenaceum* dominating in disease severity.

(BAZ-7116)

121

**2. Züchtung unter Einsatz von Zellkulturmethodik**  
**Breeding by means of cell culture techniques**

**2.1. Einlagerung von Resistenz gegenüber Gelbmosaikvirus in Wintergerste mit Hilfe rekurrenter Selektion, alternierend mit Haploidschritten**  
**Introduction of BaYMV-resistance in winter barley by the use of recurrent selection alternating with haploid steps**

Foroughi-Wehr, B.

*Mit Hilfe der rekurrenten Selektion, alternierend mit Haploidschritten, werden in deutsche Wintergersten-Sorten Resistenzgene gegen das Gelbmosaikvirus einge-*

lagert. Die Resistenzen stammen aus unterschiedlichen Formkreisen und liegen in nicht-adaptiertem Material vor. In den letzten Jahren sind neue Virusstämme aufgetreten. Deshalb ist die Verbreitung der genetischen Grundlage der Resistenz besonders wichtig, da Viren chemisch nicht bekämpft werden können. Die hier eingesetzte Methode ist sicherer und schneller als konventionelle Züchtungsprogramme.

*The recurrent selection alternating with haploid steps will be used as breeding method for the introduction of resistance genes against barley yellow mosaic virus into winter barley varieties. The sources of resistance are of different origin and the material is therefore not adapted to our climate.*

Hauptziel ist die Erweiterung des Resistenzspektrums gegenüber dem neuen Stamm des Gerstengelbmosaikvirus (BaYMV-2) und die Einlagerung dieser Resistenz in adaptiertes Wintergerstenmaterial.

Im Jahresbericht 1994 wurde das Material vorgestellt, das zur Einlagerung neuer Resistenzgene, vor allem gegen BaYMV-2, in deutsches Wintergerstenmaterial verwendet wird. Es handelt sich dabei vorwiegend um nicht angepaßtes, exotisches Material. Im Winter 1994/95 konnten die ersten DH-Stämme, die zuvor auf BaMMV-Resistenz im Gewächshaus getestet wurden, auf zwei infizierten Standorten geprüft werden. In der folgenden Tabelle 1 sind die Ergebnisse zusammengefaßt. Insgesamt sind 718 DH-Stämme getestet worden, 240 davon auf zwei verschiedenen Standorten. Die Feldbonitur wurde größtenteils durch ELISA-Messungen abgesichert. Danach waren 578 DH-Stämme symptomfrei.

Tab. 1: Ergebnisse des Resistenztests an DH-Stämmen gegenüber BaYMV-2 an unterschiedlichen Standorten

| Standort       | Secobra<br>Bad Salzuflen |      | DSV<br>Thüle |      | Secobra +<br>DSV |      |
|----------------|--------------------------|------|--------------|------|------------------|------|
|                | anf.                     | res. | anf.         | res. | anf.             | res. |
| Anz.<br>Stämme | 23                       | 165  | 75           | 215  | 198              | 42   |

Parallel dazu wurden alle Stämme in 2m<sup>2</sup>-Parzellen im Grünbacher Zuchtgarten angebaut und auf Leistungsmerkmale geprüft.

Über den Züchtungsfortschritt mit den jeweiligen exotischen Elter soll die folgende Tabelle 2 einen Einblick geben, wobei jeweils der beste DH-Stamm ausgewählt wurde.

Mit diesen Stämmen wurden, gemäß dem Schema der "rekurrenten Selektion, alternierend mit Haploidschritten", erste Rückkreuzungen gemacht. Es sind dazu 31 mehrzeilige und 27 zweizeilige DH-Stämme aus 13 exotischen Herkünften ausgewählt worden. Die DH-Erstellung hat bereits 1994 begonnen und wird fortgesetzt, so daß sukzessiv die Prüfungen auf (1) BaYMMV, (2) auf BaYMV-2 im infizierten Feld und (3) auf agronomische Merkmale in Grünbach durchgeführt werden. Die ersten dieser DH-Stämme stehen 1995/96 bereits wieder auf den in Tabelle 1 genannten infizierten Flächen.

Tab. 2: Leistungsmerkmale der besten DH-Stämme aus F<sub>1</sub>-Kreuzungen von exotischen Herkünften und deutschen Hochleistungsorten

| Exotischer Elter  | Ges. Anz. Stämme | BaYMV-2 | BF | MT | ZR | ÄS | LA | AW | KO |
|-------------------|------------------|---------|----|----|----|----|----|----|----|
| zweizeilig        |                  |         |    |    |    |    |    |    |    |
| Kobinkatagi       | 22               | r       | 6  | 7  | 4  | 3  | 1  | 5  | 6  |
| Cebada            | 16               | r       | 1  | 4  | 9  | 6  | 1  | 4  | 6  |
| Kersho            | 63               | r       | 3  | 5  | 4  | 3  | 2  | 6  | 4  |
| Bizen Wase        | 289              | r       | 2  | 3  | 5  | 7  | 1  | 4  | 5  |
| Do 2              | 35               | r       | 2  | 4  | 7  | 6  | 2  | 6  | 5  |
| Angora (Standard) | —                | a       | 2  | 4  | 8  | 4  | 1  | 3  | 3  |
| mehrzeilig        |                  |         |    |    |    |    |    |    |    |
| Kobinkatagi       | 17               | r       | 3  | 4  | 4  | 2  | 7  | 7  | 7  |
| Cebada            | 56               | r       | 1  | 6  | 5  | 2  | 2  | 6  | 5  |
| Kersho            | 140              | r       | 3  | 3  | 4  | 5  | 1  | 4  | 5  |
| Bizen Wase        | 163              | r       | 2  | 4  | 4  | 9  | 5  | 5  | 5  |
| Do 2              | 37               | r       | 3  | 3  | 7  | 6  | 8  | 7  | 6  |
| Grete (Standard)  | —                | a       | 2  | 5  | 3  | 6  | 1  | 3  | 4  |

Bonitur 1...9

BF - Blattflecken

MT - Mehltau

ZR - Zwergrost

ÄS - Ährenschieben

LA - Lager

AW - Agronomischer Wert

KO - Kornausbildung

Im Rahmen von Vereinbarungen über die Zusammenarbeit mit den praktischen Pflanzenzüchtern ist ein Teil des Materials zur weiteren Prüfung abgegeben worden. Es handelt sich dabei um 53 mehrzeilige und 55 zweizeilige DH-Stämme in A<sub>3</sub>.

**Abstract:**

New BaMMV forms have been detected during the last years. Chemical measures are inefficient because the vector of the virus is a soil fungus. Broadening the genetic base of the resistance is therefore urgently necessary. This applied breeding strategy could be proven to be more efficient and faster than a conventional breeding program.

(BAZ-7101)

122

**2.2. Einsatz des analytisch-synthetischen Zuchtsschemas in der Resistenzzüchtung von Kartoffeln**

**Application of the analytical-synthetic breeding scheme in the resistance breeding of potato**

Wenzel, G.

*Bei der Kulturkartoffel mit  $4n=4x=48$  Chromosomen gelingen sowohl die Haploidtechniken als auch die somatische Fusion. Es liegen jetzt homozygote verdoppelte Monohaploide  $2n=2x=24$  sowie Interdihaploide vor. Derartige Klone wurden inzwischen auch somatisch fusioniert. Im Forschungsprojekt wird an mono- und polygen vererbten Qualitäts- und Resistenzeigenschaften geprüft, wie weit sich durch kombinierten Einsatz klassischer Züchtung, Haploider und der Zellfusion die Effizienz in der Kartoffelzüchtung steigern läßt.*

*In potato cultivars with  $4n=4x=48$  chromosomes the haploid technique as well as the somatic fusion is applicable. Presently homozygous doubled haploids and interdihaploids, both with  $2n=2x=24$  chromosomes, are available. Such clones were fused. The present project investigates whether the efficiency for combining mono- and polygenically inherited traits can be improved by using a complex method of classical breeding, haploids and cell fusion.*

In nunmehr fünfjährigen Feldversuchen wurden somatische Hybriden der Kartoffel von nahezu 40 unterschiedlichen Ausgangsklonen auf Ertrag, morphologische Merkmale und Resistenz getestet. Der Ertrag der Hybriden erreichte 70 % bis 230 %, bezogen auf den Mittelwert der Eltern, bzw. 50 % bis 130 %, bezogen auf den besseren Elter. Dabei bestand eine recht enge Korrelation ( $r=0.88$ ) zwischen Ertrag der Hybriden mit dem des besten Elters. Dies zeigt die Wichtigkeit der Fusionseltern, weist aber auch darauf hin, daß es genügen könnte, jeweils nur einen ertragreichen Elternklon in die somatische Fusion einzubeziehen. Vergleicht man die Hybriden mit Standardsorten, so liegen bereits jetzt - bei sehr geringer Vorselektion der Eltern - einige über dem Ertragsniveau der Sorten. In drei Fusionskombinationen lag der Stärkegehalt der Hybriden um 15...20 % über dem des Mittelwerts der Eltern. Bezogen auf die Fleischfarbe der

Knollen wiesen die Hybriden meist einen intermediären Typ auf.

Wurden Klone mit monogenen Virusresistenzen gegen PVX und/oder PVY in die Fusionen einbezogen, so addierten sich diese Resistenzen mit wenigen Ausnahmen in den Hybriden. Bei quantitativ vererbter Virusfeldresistenz lag die Resistenz ebenfalls zwischen dem Niveau der Eltern. Ein ähnliches Bild bietet sich bei Fusion von Eltern mit unterschiedlicher Feldresistenz gegen *Phytophthora infestans*. In den inzwischen mehrjährig angebauten Hybridklonen liegt die Mehrzahl der Hybriden zu den Eltern intermediär, es treten aber auch positive und negative Transgressionen über das Resistenzniveau der Elternklone auf.

Die Einbeziehung von Haploidzüchtung und somatischer Fusion hat in der Kartoffel jetzt weitgehende Praxisreife erlangt. Bevor diese teure Technik aber wirklich konkurrenzfähig wird, sollte geklärt werden, warum sich einige Klone gut fusionieren und regenerieren lassen, während andere große Schwierigkeiten machen. Für diese Eigenschaft „guter oder schlechter Fusionselter“ werden derzeit in einem großen Fusionsdialekt genetische Marker gesucht.

**Abstract:**

Somatic potato hybrids were screened under field conditions. It became evident that they can reach the yield of cultivars. The combination of monogenic traits like PVX and PVY was achieved. In the case of field resistance to *Phytophthora infestans* transgressions to both, the positive as well as the negative side were observed. Presently work is in progress to determine whether the character „good or bad fusion parent“ can be correlated to molecular markers.

(BAZ-7110)

In Zusammenarbeit mit: Frei, TU München, Lehrstuhl Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung; Ninnemann, Hemleben, Univ. Tübingen

123

**2.3. Versuche zum Verständnis der somatischen Genetik der Kartoffel**

**Investigations to analyze the somatic genetics of potato**

Lössl, A.; Frei, U.; Wenzel, G.

*Somatische Hybriden einer Fusionskombination zeigen hohe phänotypische Variabilität. Mögliche Ursachen sind somaklonale Variation, Cytoplasma-Einflüsse, Kern-Cytoplasma-Wechselwirkungen. Mit Hilfe von molekularen Markern wird der Genom-, Plasmon- und Plastom-Zustand der Hybriden und Eltern möglichst genau erfaßt und mit der auftretenden Variabilität korreliert.*

*Somatic hybrids of a single combination show a high phenotypic variability. Possible reasons are somaclonal variation, the influence of cytoplasm, and interactions between nucleus and cytoplasm. For hybrids and fusion parents a detailed description of their nuclear and cyto-*

*plasmic state is done with molecular markers in order to correlate these data with the phenotypic variability.*

Bei somatischen Hybriden der Kartoffel (2x (+) 2x) ließen sich bei Nachkommen derselben Eltern unerwartet starke phänotypische Unterschiede feststellen. Trotz des isogenen Charakters ihrer Kerngenome wiesen die symmetrischen Fusionshybriden, die aus Elektrofusion stammen, eine hohe Variabilität auf.

In mehrjährigen Feldversuchen äußerte sich die Verschiedenheit der Hybriden vor allem in den Ertragsleistungen und in den Stärkegehalten, die in fünf verschiedenen Fusionspopulationen gemessen wurden. Um die Ursachen der phänotypischen Variabilität, die zwischen Fusionshybriden einer Elternkombination auftritt, aufzuklären, wurde die Kern-, Plastiden- und Mitochondrien-Genomzusammensetzung der hybriden Regenerate mittels RFLP-Analyse m100: charakterisiert.

Von vier Kombinationen wurde der Anteil der Kerngenom-Abweichungen für jedes Chromosom und der Prozentsatz der Hybrid-Genotypen mit abweichendem Bandenmuster festgestellt. Die Häufigkeit dieser Deviationen war abhängig von der *in-vitro*-

Regenerationsdauer nach der Fusion. Die Gegenüberstellung der phänotypischen Daten der Feldversuche mit den Ergebnissen der molekularen Analyse ergab keine Korrelation mit den Kerngenom-Abweichungen.

Es stellte sich daher die

Frage, in welchem Maße das nicht-maternal vererbte Cytoplasma zur Entwicklung unterschiedlicher Genotypen beiträgt: Die Plastiden-Segregation bei den analysierten Fusionshybriden war in fast allen Fällen vollständig im Verhältnis 1:1 verlaufen. Mischungen der Chloroplastentypen waren die Ausnahme, Rekombinationen waren nicht zu finden. Die Korrelation der elterlichen Plastiden-Typen „W“ und „T“ einer Fusionspopulation mit dem Stärkegehalt zeigte, daß das Plastom „T“ des stärke-reichen Elters auch in den analysierten Hybriden einen eindeutig positiven Einfluß auf diesen Feldparameter ausübt. In der betreffenden Fusionspopulation deutete bereits das schiefe Segregationsverhältnis von 1:6 darauf hin, daß der Cp-Typ „T“ in einer günstigeren Interaktion mit dem neu fusionierten Kerngenom steht. Möglicherweise haben sich die „W“-Typen aufgrund einer geringeren Kompatibilität durch reduzierte Photosyntheselei-

stung schon während der Regenerationsphase vermindert.

Die zweite Quelle cytoplasmatischer Variabilität lag in den Mitochondrien-Genomen der Hybriden: Die Organisation der mitochondrialen Genome von ca. 75 % der Fusionshybriden zeigte an den untersuchten Loci größere Umlagerungen. Die Rekombinationen äußerten sich in Form von Duplikationen, lokalen Mischungen und partieller Addition der elterlichen Restriktionsfragmente. Die Hybriden wiesen in der Zusammensetzung ihres mitochondrialen Genoms häufige Wechsel zwischen Abschnitten auf, die jeweils von den verwendeten Fusionseltern stammen. So zeigt die Sonde m100 die Rekombinationen R1 und R2, die sich zwischen den Genorten *cob* und *rps14* ereigneten (Abbildung 1). Aus der Protoplastenfusion entwickelten sich neue Chondriom-

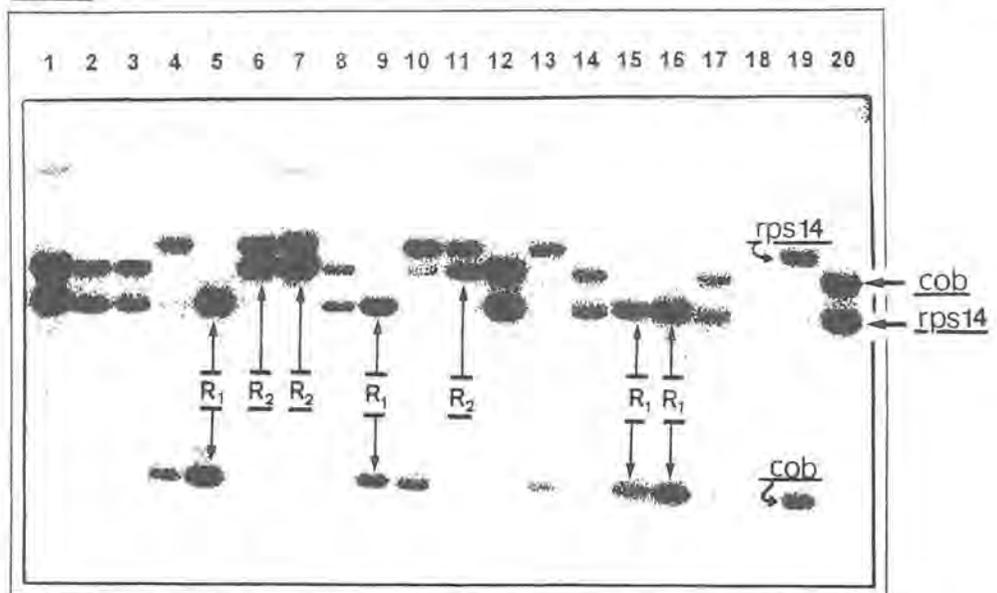


Abb. 1: Vergleich der Hybriden (Spuren 1...17) mit ihren Eltern (Spuren 19,20). Das Autoradiogramm eines Southern Blots zeigt mit *EcoRI* geschnittene DNA, sondiert mit der mitochondrialen Sonde m100. Sieben Fusionshybriden weisen an den Loci *cob* und *rps14* ein von den Elterntypen abweichendes Muster auf (R1 und R2)

Typen und neue Chondriom-Plastom-Kombinationen.

Der Vergleich der Mitochondrien-Typen innerhalb zweier Fusionspopulationen ergab, daß jeweils der Chondriom-Typ B mit einem höheren Ertragspotential, als die stark heterogenen mitochondrialen Genome und das A-Chondriom verbunden ist.

Unter den rekombinanten Chondriom-Typen **R1** und **R2** ließ sich ein hoher Vitalitätsunterschied feststellen, der sich in beiden Populationen durch ein höheres Ertragsniveau des Typus **R2** äußerte (Abbildung 2). Dieser Typ besaß das gleiche Ertragspotential wie jene Hybriden, die bezüglich der sondierten Chondriom-Regionen als **homogen** einzustufen waren.

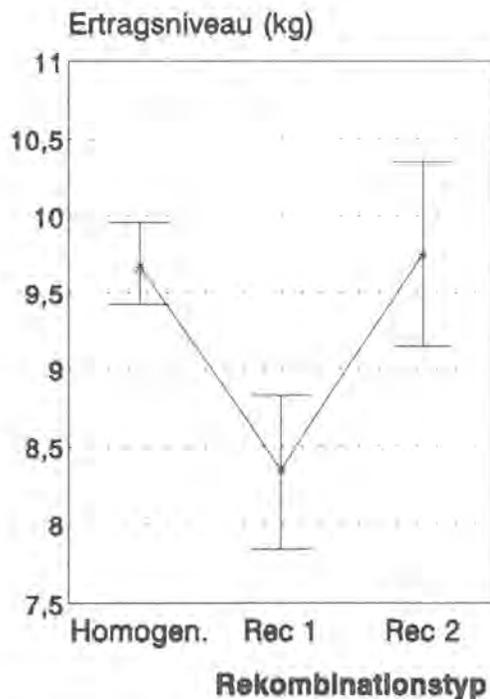


Abb. 2: Vergleich der Hybriden mit rekombinanten Chondriomen R1 und R2 und homogenen Typen im Ertragsniveau der letzten drei mehrjährigen Versuchsjahre

Damit erwies sich das Plasmon als ein wichtiger Einflußfaktor für die phänotypische Variabilität in den somatischen Fusionshybriden. Das Potential der Genomanalyse somatischer Fusionshybriden liegt daher nicht nur in der Entwicklung neuer Kartoffelsorten, sondern eröffnet vor allem neue Möglichkeiten für eine zukunftsorientierte Pflanzenzüchtung. Die Züchtung dauerhaft gesunder Pflanzen erfordert eine hohe Kompatibilität der drei Genome in den Hybriden. Eine Optimierung der Kombination der Cytoplasma-Komponenten mittels der Marker-gestützten Selektion bietet sich an, um die Genotypen mit hoher Vitalität frühzeitig zu selektieren.

#### Abstract:

The main source for the observed variability of somatic hybrids could be correlated to differences in the mitochondrial genome. A optimization of the cytoplasmic and nuclear genomes will become possible by marker assisted selection. By this approach genotypes with a high vitality should be selectable.

(BAZ-7112, 7113)

In Zusammenarbeit mit: TU München-Weihenstephan, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

124

#### 2.4. Unkonventionelle Züchtungsmethoden zur Qualitäts- und Resistenzsteigerung von *Solanum*-Arten Unconventional approaches to genetical improvement of *Solanum* species

Stattmann, M.; Wenzel, G.

Innerhalb der Gattung *Solanum* gibt es einige Medizinalpflanzen, die aufgrund ihres Gehaltes an Steroidalkaloiden als Rohstoffquelle für die pharmazeutische Produktion dienen. Um die Kultivierung dieser Wildarten zu ermöglichen, werden biotechnologische Verfahren und klassische Züchtung kombiniert. Zuerst standen hierbei der Einsatz von Zellfusionstechniken und Regeneration im Vordergrund. Es konnten bereits somatische Hybriden aus zwei Kombinationen mit *Solanum khasianum* gewonnen werden, die chemisch-analytisch mit Kreuzungsprodukten verglichen werden konnten. Parallel dienten molekulare Marker neben Isoenzymanalysen zur näheren Hybrididentifizierung und -charakterisierung des gesamten Materials.

Among the Solanaceae, some species are considered to be promising sources of steroid alkaloids. For a common breeding program Indonesia-Germany, we are mainly working on *Solanum khasianum* in combining classical breeding techniques with biotechnological methods to improve the production of secondary compounds.

*Solanum khasianum* ist aufgrund des hohen Gehaltes an Steroidalkaloiden eine vielversprechende Rohstoffquelle für die pharmazeutische Produktion oraler Kontrazeptiva. Unter dem Aspekt einer verbesserten Nutzungsmöglichkeit für eine Arzneimittelproduktion in Indonesien sollte vor allem mit der somatischen Zellfusion ein höherer Solasodingehalt bei gleichzeitiger morphologischer Veränderung erzielt werden. Aus interspezifischen Fusionen zwischen *S. khasianum* und sechs weiteren *Solanum*-Arten wurden insgesamt 1051 Pflanzen erhalten. Bereits auf Kallusebene gelang mit Hilfe der Isoenzymfärbung eine einfache und schnelle Hybrididentifizierung. Die hohe Praktikabilität wurde auch durch den Vergleich mit dem Nachweis auf chromosomalem Niveau (RFLP- und RAPD-Marker) unterstrichen. Somatische Hybriden regenerierten aus Fusionen zwischen *S. khasianum* und *S. aculeatissimum* sowie zwischen *S. khasianum* und *S. mammosum*. Die Hybridrate betrug 45 % bzw. 15 %.

Die somatischen Hybriden fielen durch eine größere Wüchsigkeit mit sonst eher intermediärem Habitus auf. Ein positiver Heterosiseffekt kennzeichnete die Blüten. Der Beerenansatz der weitgehend fertilen Hybriden unterlag in Abhängigkeit vom Anbaugesbiet (Serpong, Indonesien, Freiland; Grünbach, Gewächshaus) großen Schwankungen: In Indonesien lag der Ertrag mit über 480g/Pflanze deutlich über dem beider Eltern, während das deutsche Versuchsmaterial einen intermediären Ertrag mit 130g/Pflanze zeigte.

Mit einer optimierten sauren Hydrolyse wurde der Gehalt des Aglykons Solasodin im Fruchtmaterial der Hybriden im HPLC-Verfahren ermittelt. Auf Ebene des Steroidstoffwechsels konnte leider nur ein eindeutig negativer Hybrideffekt beobachtet werden. Für die praktische

Nutzung sind damit die erfolgreich erstellten somatischen *Solanum*-Hybriden nicht einsetzbar.

**Abstract:**

A cell fusion and regeneration system could be established for *Solanum* ssp. Somatic hybrids were obtained from two combinations of *Solanum khasianum* with *S. aculeatissimum* and *S. mammosum*, respectively. By TLC and HPL chromatography somatic hybrids and sexually crossed material were analysed. Molecular markers were used to identify and characterize the plant material. It was not possible to improve the production of the secondary compound solasodin in the somatic hybrids.

(BAZ 7119)

In Zusammenarbeit mit: Pryanto, BPPT, Serpong, Indonesien

125

**2.5. Verbesserung der Haploidausbeute bei *Solanaceen***

**Improvement of haploid induction in *Solanaceae***  
Ltfi, A.; Wenzel G.

*Haploide bzw. Doppelhaploide stellen eine eingeführte biotechnologische Methode in der Kombinationszüchtung sowie der Zellfusion dar. Besonders bei Solanaceen hat das Verfahren Praxisreife erlangt. Hier soll für Capsicum annum die Reproduzierbarkeit weiter gesteigert werden.*

*Haploids and double haploids are successfully used in combination breeding and somatic hybridization programs. Especially in Solanaceae the procedure gained applicability. Here, the reproducibility shall be further improved for Capsicum annum.*

Durch Übertragung der für die Kartoffel ausgearbeiteten Technik für Haploidinduktion und Protoplastenkultur gelang es bei *Capsicum annum*, von über 40 tunesischen Paprikasorten Gewebekulturen anzulegen und eine schnelle Vermehrung einzuleiten. Von einigen Genotypen wurden über Antherenkultur haploide Pflanzen erzeugt, die wiederum das Ausgangsmaterial für die Protoplastenerstellung für Fusionsversuche liefern. Das Ziel der somatischen Hybridisierung besteht jetzt darin, agronomisch wichtige Eigenschaften sowie die Resistenz gegen *Phytophthora infestans*, TMV und PVY zu kombinieren. Die Regeneration der Elternprotoplasten gelingt zufriedenstellend. Nach somatischer Fusion liegen jetzt große Kalluszahlen vor, die mit molekularen Sonden auf ihre Hybridnatur geprüft werden. Sobald die Regeneration einsetzt, können die molekularen Daten mit morphologischen Eigenschaften überprüft werden. Die sich anschließenden Resistenzuntersuchungen sollen nach Projektende direkt im Freiland in Tunesien erfolgen.

**Abstract:**

For *Capsicum annum* haploids could be produced and from such cultures protoplasts were isolated. The protoplasts are active and formed calli. After somatic hybridization by electrofusion presently calli are available the

hybrid nature of which needs, however, still confirmation.

(BAZ-7120)

In Zusammenarbeit mit: Debergh, Univ. Gent, Belgien  
126

**2.6. Zellfusion als Mittel der Kombinationszüchtung bei vegetativ vermehrten Fruchtarten**  
**Cell fusion as a mean for combining genomes of vegetatively propagated crops.**

Assani, A.; Wenzel, G.

*Ausgehend von der Elektrofusion bei der Kartoffel, wird dieses Fusionssystem auf die Banane übertragen. Dazu werden Suspensionskulturen von zehn Genotypen der Banane genutzt. Es gelingt bisher, daraus Protoplasten zu isolieren und Teilung zu induzieren.*

*Starting from electro-fusion of potato protoplasts, this fusion system is being transferred to banana.*

Die Gewebe- und Zellkulturmethodik der Kartoffel konnte auf 10 verschiedene Genotypen der Banane übertragen werden. So gelingt jetzt reproduzierbar die Pflanzenregeneration aus Bananenkallus. Aus den gleichen Kalluskulturen, die sich regenerieren lassen, können jedoch keine Protoplasten isoliert werden. Die Protoplastenkultur gelingt nur zufriedenstellend aus Suspensionskulturen mit einer hohen Teilungsrate und sehr kleinen Aggregaten. Aus diesen Kulturen konnten in genügend großer Zahl lebende Protoplasten isoliert und zu ersten Teilungen induziert werden. Durch Einsatz unterschiedlichster Nährmedien und verschiedener Kulturbedingungen wird derzeit versucht, die Teilungsrate so zu stabilisieren, daß sich Kallus entwickelt. Damit schließt sich dann der Entwicklungskreis von der Einzelzelle zum Kallus und von dort nach der bereits erarbeiteten Methode zur Pflanze.

**Abstract:**

Protoplasts were isolated from suspension cultures of ten different banana genotypes. Divisions of banana protoplasts could be induced.

(BAZ-7137)

In Zusammenarbeit mit: Haicour, Université Paris Sud, Frankreich

127

### 3. Resistenzdiagnose und Resistenzaufbau mit molekulargenetischen Mitteln Application of molecular markers for diagnosis of resistance genes and germplasm enhancement

#### 3.1. Analyse von Wirt-Pathogen-Interaktionen im System Weizen/*Pseudocercospora herpotrichoides* und Charakterisierung der DNA-Sequenzen von Genen, die an der Interaktion beteiligt sind

Analysis of host/pathogen interactions in the system wheat/*Pseudocercospora herpotrichoides* and characterization of DNA sequences of genes involved in the interaction

Lind, V.; Brüning, H.

Aus gesundem Weizen können Proteine isoliert werden, deren Synthese nach Infektion mit *Pseudocercospora herpotrichoides* nicht mehr erfolgt. Nach Infektion werden Proteine nachgewiesen, die in gesunden Pflanzen nicht vorhanden waren. Erscheinen und Verschwinden der Proteine scheinen in gegenseitiger Abhängigkeit zu stehen und sind pilzspezifisch. Nach Isolierung von mRNA aus gesunden und befallenen Pflanzen wird eine cDNA-Bank erstellt und mit bakteriellen Expressionsvektoren die genetische Information der cDNA umgesetzt. Dann wird das entsprechende Gen für die Proteinsynthese in gesunden und infizierten Pflanzen identifiziert. Die Erkennung der durch cDNA-Klone produzierten Proteine erfolgt durch ELISA.

The synthesis of a protein which can be isolated from non-infected wheat genotypes is stopped after infection by *Pseudocercospora herpotrichoides*. New proteins which never occur in healthy plants can be detected after infection. The presence and absence of these proteins seems to depend on each other and is induced specifically by *P. herpotrichoides*. The mRNA isolated from plants (infected or non-infected) is used to construct a cDNA library. By bacterial expression vectors the genetic information is transcribed. Analyzing DNA sequences can identify the genes controlling protein synthesis in infected and non-infected plants.

Wenn Weizen mit *Pseudocercospora herpotrichoides* infiziert wird, ist ein Protein von 7,8 kD mit zunehmender Infektionsdauer gelelektrophoretisch allmählich nicht mehr nachweisbar.

Dieses Protein wird mit der Wirt-Pathogen-Interaktion in Zusammenhang gesehen und könnte mit dem Abwehrmechanismus der Wirtspflanze in Beziehung stehen. Deshalb wurde von Weizen eine cDNA-Bank angelegt. 22 Klone reagierten im Immunoscreening positiv. Die anschließende Restriktionsanalyse der klonierten Sequenzen ergab 13 voneinander verschiedene Klone mit Insertgrößen von 1500 bis 300 Basenpaaren. Kurze cDNA-Sequenzen wurden ganz, längere Sequenzen wurden ansequenziert.

Aus dem Vergleich mit Daten der EMBL-Genbank ergaben sich Hinweise, daß es sich um Gene für Proteine des photosynthetischen Elektronentransports, Plastocyanin petE und Ferredoxin petF, handeln könnte.

Für Plastocyanin resultierte aus dem Vergleich der überlappenden Sequenzen ein zusammenhängender Abschnitt von ca. 700 bp. Dieser wurde mit den aus der Literatur bereits bekannten Sequenzen für Plastocyanin von Erbse, Spinat, *Arabidopsis* und *Silene* verglichen. Es muß noch geprüft werden, ob es sich wie bei der Erbse um ein "single copy"-Gen oder wie beim Spinat um ein intronfreies Gen handelt.

Abstract:

The synthesis of a 7,8 kd protein, which can be isolated from non-infected wheat genotypes is stopped after infection by *Pseudocercospora herpotrichoides*. The mRNA isolated from plants was used to construct a cDNA library. Immunoscreened clones revealed after restriction analysis and sequencing homologies to genes for the photosynthetic electron transport plastocyanin petE and ferredoxin petF. The overlapping sequences resulted for plastocyanin in a continuous stretch of about 700 bp. The sequence can be compared with literature data of the petE gene for pea, spinach, *Arabidopsis*, and *Silene*. The questions, if wheat has also a single copy gene for petE as pea or if it has an uninterrupted sequence as spinach has still to be answered.

(BAZ-7128)

128

#### 3.2. Hochauflösende RFLP-Kartierung des *ym4*-Virusresistenzlocus der Gerste Development of a high resolution map in barley around the *ym4* locus conferring resistance to barley mild mosaic virus (BaMMV)

Graner, A.; Bauer, E.

Ziel des Projektes ist die molekulargenetische Analyse der Virusresistenz der Gerste. Hierbei soll mit Hilfe der RFLP-Analyse die Kartierung neuer Virusresistenzgene im Gerstengenom erfolgen. Dafür wurde eine hochauflösende Karte, die auf 2 500 Chromosomen basiert, aufgebaut. Um die Region mit dem *Ym4*-Locus weiter mit Markern abzusättigen, wurden 400 RAPD-Primer zum Screening resistenter und anfälliger Pools getestet. Es fanden sich zwei Marker, die mit dem Resistenzgen auf dem langen Arm des Chromosoms 3 in einem Abstand von weniger als 5 cM gekoppelt waren.

The project aims at molecular analysis of new genes conferring resistance to the barley yellow mosaic virus complex.

Die Verfügbarkeit molekularer Markersysteme eröffnet die Möglichkeit, Gene zu klonieren, ohne Kenntnis über etwaige Genprodukte (Proteine) zu besitzen. Auf diese Weise wird eine große Zahl agronomisch wichtiger Eigenschaften, deren biochemische Grundlagen bisher unbekannt sind, einer molekularen Charakterisierung zugänglich. Langfristiges Ziel des vorliegenden Projekts

ist die Isolierung des *ym4*-Virusresistenzgens. Das Zentrum der markergestützten Klonierung bildet der Übergang von der rekombinationsgenetischen Ebene (RFLP-Karte) auf die physikalische Ebene (DNA-Klonierung). Das *ym4*-Resistenzgen wurde als genetisches Modell gewählt, da seine Position am distalen Ende des langen Armes von Chromosom 3 auf ein besonders günstiges Verhältnis zwischen genetischen (cM) und physikalischen Distanzen (Basenpaaren) hindeutet. Die Ursache hierfür liegt in einer von proximalen hin zu distalen Chromosomenbereichen zunehmenden Rekombinationsfrequenz. In einem ersten Schritt ist es zunächst dennoch erforderlich, die genetische Auflösung der molekularen Markerkarte im Bereich des *ym4*-Gens um mehr als eine Zehnerpotenz zu erhöhen. Entsprechende Arbeiten zur Vergrößerung der Kartierungsgrundlage von knapp 100 Meiosen auf ca. 1 500 Meiosen sind gegenwärtig im Gange. Da es nicht möglich ist, Resistenztestungen gegen BaMMV auf Einzelpflanzenebene und an der gesamten Kreuzungsnachkommenschaft durchzuführen, werden ausschließlich solche  $F_2$ -Einzelpflanzen selektiert, welche im Bereich von das Resistenzgen flankierenden Markern eine Rekombination aufweisen. Entsprechende Genotypen werden im Bereich des Markerintervalls durch einen Selbstungsschritt in den homozygoten Zustand überführt und können anschließend, in mehrfacher Wiederholung, auf Virusresistenz geprüft werden. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt liegt eine  $F_2$ -Nachkommenschaft, bestehend aus 1 040 Einzelpflanzen vor, welche mit Hilfe von Isoenzym-, PCR- und RFLP-Markern auf Rekombinanten im Bereich des Virusresistenzgens geprüft wurde. Die weitere Absättigung des distalen Bereichs vom Chromosom 3L mit RFLP-Markern aus anderen Gräserkarten verlief weitgehend negativ. Keiner der bisher geprüften RFLP-Marker (>20) zeigte einen Polymorphismus zwischen den Kreuzungseltern 'Igri' (anfällig) und 'Franka' (resistent) nach Analyse über sechs Restriktionsenzyme. Dies widerspricht den Erwartungen, nach denen im Bereich des Resistenzgens der Polymorphiegrad erhöht sein sollte. Die „bulked segregant“-Analyse mit RAPD-Markern wurde bei einem Stand von 400 geprüften Markern eingefroren. Vier gekoppelte Marker wurden identifiziert, wobei zwei Marker (OP-Z04 und OP-L14) Kopplungswerte unter 5 % aufweisen. Beide Marker liegen distal zum Gen und es werden gegenwärtig Versuche unternommen, die entsprechenden Fragmente zu klonieren, um robustere STS-Marker zu entwickeln, welche beim Markerscreening der hochauflösenden  $F_2/F_3$ -Kartierungsnachkommenschaft eine beträchtliche Zeitersparnis bedeuten würde.

#### Abstract:

For this, a high resolution genetic map based on 2500 chromosomes is being constructed using a marker based approach. To further saturate the chromosomal region carrying the resistance gene *Ym4* with molecular markers, 400 RAPD primers were used to screen resistant and susceptible DNA bulks. Two markers were found linked

to the resistance gene at a distance of less than 5 cM. on the long arm of chromosome 3.

(BAZ-7133)

In Zusammenarbeit mit: Ordon, Univ. Giessen; Fa. Weissheimer Malz, Andernach

129

### 3.3. Weiterentwicklung molekularer Markersysteme zur genetischen Analyse von adaptiertem Gerstenmaterial und Betreuung der bestehenden DNS-Sondenbank der Gerste

**Further development of molecular marker systems for the analysis of adapted barley germplasm and maintenance of the barley RFLP-probe repository**

Graner, A.

*Die Verfügbarkeit einer gesättigten molekularen Markerkarte des Gerstengenoms stellt die Grundlage für die Nutzung molekularer Marker, sowohl zum Studium wissenschaftlicher Fragestellungen als auch in der praktischen Gerstenzüchtung, dar. Um die Kompatibilität der „Igri“ x „Franka“-Karte mit Karten anderer Gräser zu erhöhen, wurden weitere Marker wichtiger Karten untersucht. Besondere Intensität liegt auf der Reis-Karte, da Reis zur Leitpflanze bei der Genomanalyse der Monokotylen geworden ist. Um eine weite Anwendung der Gersten-Marker zu ermöglichen, wird in Grünbach eine DNA-Sondenbank mit über 1 000 DNA-Proben erhalten, die für wissenschaftliche Zwecke, aber auch auf Anfrage der Züchtungsindustrie zur Verfügung gestellt werden.*

*The availability of a saturated map of the barley genome is a prerequisite for the application of molecular markers on both the basic and the applied level. To further increase the compatibility of the "Igri" x "Franka" barley map with maps of other grass species additional markers from major maps was integrated.*

#### RFLP-Kartenentwicklung:

Als Grundlage für die Kartierung und Markierung wirtschaftlich wichtiger Gene wurde der Ausbau der bestehenden Karte der Kreuzung 'Igri' x 'Franka' fortgesetzt. Diese enthält zum gegenwärtigen Zeitpunkt rund 470 molekulare Marker. Besonderes Augenmerk wird weiterhin auf die Selektion weiterer Einzelkopiemarker gelegt, da nur diese eine zweifelsfreie Übertragung der Ergebnisse in fremdes Material gewährleisten können. Die experimentellen Arbeiten zur Vereinigung der Münchner Karte der Kreuzung 'Igri' x 'Franka' mit anderen Gräserkarten wurden fortgesetzt. Im Berichtszeitraum wurde mit der Integration von Reismarkern begonnen. Ziel der Arbeiten ist die Identifizierung syntanischer Genomfragmente bei Gerste und Reis.

Einen Schwerpunkt der Arbeiten bildet die Kartierung von Reismarkern auf Chromosom 3, da auf diesem Chromosom die weitere molekulare Charakterisierung der dort lokalisierten Resistenzgene gegen den BaYMV-Komplex angestrebt wird. Der Stand der Arbeiten ist in Tabelle 1 zusammengefaßt.

Tab. 1: Chromosomale Zuordnung von bei der Gerste kartierten Reis-Markern.

| Gerste | Reis | Marker |
|--------|------|--------|
| 1S     | 9    | OsC356 |
| 1L     | 6    | OsC236 |
| 2S     | 7    | OsC213 |
| 2S     | 3    | OsC198 |
| 3S     | 1    | OsC131 |
| 3S     | 1    | OsC122 |
| 3L     | 1    | OsC250 |
| 3L     | 1    | OsC949 |
| 4S     | 7    | OsC147 |
| 5L     | 11   | OsC6   |
| 6S     | 5    | OsC597 |
| 6S     | 4    | OsC174 |
| 6L     | 2    | OsC601 |
| 6L     | 3    | OsC74  |

Tab. 2: Bearbeitete Sondenfragen

| Land  | Anfragen <sup>1</sup> | Sonden <sup>1</sup> | Anfragen <sup>2</sup> | Sonden <sup>2</sup> |
|-------|-----------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|
| ARG   | 0                     | 0                   | 1                     | 35                  |
| AUS   | 2                     | 6                   | 7                     | 62                  |
| B     | 0                     | 0                   | 3                     | 62                  |
| CDN   | 0                     | 0                   | 1                     | 56                  |
| CH    | 2                     | 40                  | 2                     | 40                  |
| D     | 8                     | 130                 | 39                    | 756                 |
| DK    | 0                     | 0                   | 4                     | 132                 |
| ESP   | 0                     | 0                   | 1                     | 56                  |
| F     | 2                     | 64                  | 6                     | 160                 |
| GB    | 2                     | 56                  | 11                    | 298                 |
| H     | 1                     | 1                   | 1                     | 1                   |
| I     | 2                     | 62                  | 3                     | 95                  |
| JPN   | 0                     | 0                   | 4                     | 79                  |
| NL    | 0                     | 0                   | 2                     | 126                 |
| NZ    | 1                     | 13                  | 2                     | 27                  |
| RSA   | 1                     | 6                   | 1                     | 6                   |
| S     | 1                     | 7                   | 3                     | 47                  |
| SF    | 0                     | 0                   | 1                     | 56                  |
| SYR   | 0                     | 0                   | 1                     | 56                  |
| USA   | 3                     | 14                  | 27                    | 954                 |
| VR.   | 0                     | 0                   | 1                     | 57                  |
| China |                       |                     |                       |                     |
| Total | 25                    | 399                 | 121                   | 3 161               |

<sup>1)</sup> im Berichtszeitraum; <sup>2)</sup> gesamt seit 1989

#### Sondenbank:

Im Zuge der Verwaltung der DNA-Sondenbank wurden im Berichtszeitraum insgesamt 25 Anfragen bearbeitet, in deren Rahmen 399 RFLP-Sonden in Form getrockneter Plasmid-DNA zum Versand gelangten. Damit erhöhte sich die Anzahl der versandten Klone auf über 3 000 (Tab. 2).

RFLP-Sonden des Münchner Forschungsverbundes kommen inzwischen in allen fünf Erdteilen zum Einsatz. Dies ist umso bemerkenswerter, als durch den nach wie vor fehlenden Zugang zum Internet die Aktualisierung der am Institut erarbeiteten Gerstendaten in den entsprechenden Datenbanken (USDA, Graingenes) nur sehr mühsam und zeitversetzt (derzeitiger Stand: 1992) geschieht. Erstmals erfolgte die Klonabgabe nicht nur zu wissenschaftlichen Zwecken. Im Rahmen von Lizenzabkommen wurden RFLP-Marker an zwei deutsche und ein französisches Unternehmen abgegeben. Diese Zahlen unterstreichen den praktischen und wissenschaftlichen Wert der am Institut vorhandenen SONDENSAMMLUNG.

#### Abstract:

In the construction of a saturated molecular barley map particular emphasis was given to the incorporation of RFLP markers from rice, because this species has taken a leading position in genome analysis of monocotyledonous species. In order to facilitate a widespread application of barley markers, a DNA probe repository comprising more than 1 000 DNA probes for barley is being maintained at the institute to comply with probe requests both from the scientific community and breeding companies. (BAZ-7134)

In Zusammenarbeit mit: Kleinhofs, Washington State University, USA; Mather, McGill University, Canada; STAFF, Japan

130

#### 3.4. RFLP-Kartierung wirtschaftlich wichtiger Genkomplexe der Gerste (*Hordeum vulgare*) RFLP mapping in barley (*Hordeum vulgare*) of agricultural important genes

Graner, A.; Kellermann, A.; Foroughi-Wehr, B.; Valkov, V.

Ziel des Projektes ist die molekulargenetische Analyse verschiedener Krankheitsresistenzen bei Gerste einschließlich der Entwicklung entsprechender selektierbarer Marker. Für den Gelbmosaikvirus-Komplex wurden sieben Gene mit RFLP-Markern korreliert. Zwei Haupt-Resistenzgene für die Blattkrankheiten *Rhynchosporium secalis* und *Pyrenophora teres* kartieren eng gekoppelt auf dem langen Arm von Chromosom 3. Um den praktischen Einsatz der Marker bei der Selektion zu erleichtern, wurde eine RFLP-Sonde in eine PCR-Sonde umgewandelt.

The project aims at molecular analysis of new genes conferring resistance to various diseases of barley including the development of corresponding selectable markers.

Vornehmliches Ziel der Arbeiten ist die Identifizierung, Lokalisierung und molekulare Markierung neuer Resistenzgene. Um die Anwendung molekularer Marker in praktischen Zuchtprogrammen zu erleichtern, werden RFLP-Marker, welche eine enge Kopplung zu nachfolgend beschriebenen Resistenzgenen aufweisen, in PCR-gestützte STS-Marker konvertiert. Im Zentrum der Aktivitäten stehen Resistenzen gegen den Gelbmosaikvirus-komplex (Barley Mild Mosaic Virus, Barley Yellow Mosaic Virus). Hierbei konnte die Anzahl der lokalisierten Gene auf 7 erhöht werden, darunter ein Gen, welches Resistenz gegen alle drei Virusstämme bewirkt. Für weitere genetische Untersuchungen wurde mit dem Aufbau spaltender Nachkommenschaften begonnen.

In Bezug auf pilzliche Resistenzen wurde gegen den Schaderreger *Rhynchosporium secalis* ein monogen vererbtes Resistenzgen (*Rh*) in den Wintergerstensorten 'Triton' und 'Franka' identifiziert. Resistenztestungen und RFLP-Kartierung wurden an zwei Kreuzungsnachkommenschaften, die insgesamt 115 DH-Linien umfassen, durchgeführt. Das *Rh*-Gen befindet sich im proximalen Bereich des langen Arms von Chromosom 3, wo es durch eine Gruppe kosegregierender RFLP-Marker markiert wird. Im Zuge weiterer Arbeiten gelang es, eine eng gekoppelte RFLP-Sonde in einen kodominanten STS (sequence tagged site) Marker umzuwandeln. Ebenfalls im proximalen Bereich des langen Arms von Chromosom 3 konnte ein Resistenzgen gegen den Schadpilz *Pyrenophora teres* lokalisiert und mit Hilfe von RFLP-Markern feinkartiert werden. Spaltungsanalysen weisen auf eine extrem enge Kopplung zum *Rh*-Gen hin, wobei beide Gene allerdings in Repulsionsphase vorliegen.

#### Abstract:

Main emphasis has been given to the resistance to the barley yellow mosaic virus complex. Here seven genes have been tagged until now by RFLP markers. Also, two major genes conditioning resistance to the foliar pathogen *Rhynchosporium secalis* and *Pyrenophora teres* were mapped on the long arm of chromosome 3, where they are closely linked. To facilitate marker assisted selection, a PCR marker was developed.

(BAZ-7105, 7108, 7138)

In Zusammenarbeit mit: Tekauz, Agriculture Canada; Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben; Ordon, Univ. Gießen

131

### 3.5. Transformation von Mikrosporen bei Gerste Transformation of barley microspores Foroughi-Wehr, B.

Ziel diese Vorhabens ist es, eine stabile und reproduzierbare Transformationstechnik für Wintergerste zu entwickeln bzw. so zu adaptieren, daß sie mit praxisrelevanten Genen unter Züchtungsbedingungen arbeitet.

This project aims at the development and the adaptation of a stable and reproducible transformation system for

applied purposes with genes of practical importance in winter barley.

Für Transformationsversuche mit Gerste-Mikrosporen wurden weitere Vorversuche mit isolierten Mikrosporen durchgeführt, um die Permeabilität der Exine zu erhöhen. Eine kombinierte Anwendung von PEG (Polyethylenglycoll) und DMSO (Dimethylsulfoxid) brachte noch 20-minütiger Einwirkung noch eine hohe Pflanzenregenerationsrate. Auch eine 10-minütige Einwirkung von Polybren, einem Stoff, der in der tierischen Zellkultur Verwendung findet, auf die isolierten Mikrosporen brachte eine gegenüber der Kontrolle nur um 20...30 % verringerte Regeneration.

Neben den Versuchen mit isolierten Mikrosporen wurde versucht, die Kultur unreifer Embryonen zu etablieren. Dieses System wird von verschiedenen Forschungsgruppen ebenfalls als Ausgangsmaterial für Transformationsversuche benutzt. Die in der Literatur beschriebenen Methoden und Medien wurden miteinander verglichen. Es wurden Embryonen 12...15 Tage nach der Anthese verwendet und in folgenden Behandlungsvarianten kultiviert:

1. Ganzer Embryo mit Scutellum auf Medium,
2. ganzer Embryo mit Embryoachse auf Medium,
3. Embryo in der Längsachse geteilt,
4. Embryo ohne Embryoachse.

Der Versuchsumfang betrug etwa 160 Embryonen pro Behandlung. Es bildeten sich nach 3...4 Wochen sowohl embryogene Strukturen als auch Kallus, die getrennt weiter kultiviert wurden. Bis auf Variante 4 regenerierten aus Kallus und embryogenen Strukturen sowohl grüne Pflanzen als auch Albinos. In den Kalluskulturen trat jedoch verstärkt Wurzelbildung ohne Sproßregeneration auf. Die Zahl der entstehenden Pflanzen nahm mit zunehmender Kulturdauer ab. Das MS-Medium mit 2,5mg/l Dicamba erbrachte bessere Ergebnisse als die Zugabe von 2,0mg/l 2,4-D. Die Transformation unreifer Getreideembryonen ist eine mehrfach erfolgreich angewendete Methode und soll bei uns lediglich als Kontrolle beim Partikel-Beschuß dienen.

#### Abstract:

Besides handling isolated microspores of barley to use them as a target for transformation, immature embryos were cultured. Such immature embryo cultures will be used as controls for experiments with microspores and microbombardement.

(BAZ-7103)

In Zusammenarbeit mit: Frei; TU München, Inst. f. Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung

132

## Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung Institute for Breeding of Vegetable, Medicinal and Spice Plants Quedlinburg

Aufgabe des Institutes für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung ist die kulturartenspezifische Züchtungsforschung. Das Ziel ist die Erzeugung von Basismaterial für den Zuchtprozeß.

Arbeitsgebiete bzw. profilbestimmende Methoden im Institut sind:

- Entwicklung und Adaptierung von Resistenzprüf- und -selektionsmethoden sowie Einführung neuer Resistenzquellen (Virosen und Mykosen);
- Einsatz von Erregern mit definierter Virulenz und Charakterisierung des Resistenzverhaltens;
- pflanzliche Zell-, Gewebe- und Organkultur unter Einbeziehung von Protoplastenfusion;
- Etablierung embryogener Suspensionen;
- molekularbiologische und gentechnische Arbeiten;
- Überwindung von Kreuzungs- und Hybridsterilität;
- prebreeding neu geschaffener Formen.

The institute for Breeding of Vegetable, Medicinal and Spice Plants has the task to carry out breeding research on specific culture plants. Goal of this researches is the production of new basic material for the breeding process.

Fields of work respectively profile determining methods in the institute are:

- Development and adaptation of resistance screening techniques and selection methods;
- introduction of new resistance sources;
- using of pathogens of defined virulence and characterization of resistance manifestation;
- plant cell, tissue and organ culture, protoplast fusion included;
- establishment of embryogenic suspensions;
- molecularbiological methods and gentechnique;
- overcoming of cross barriers and hybrid sterility;
- prebreeding of new created forms.

### 1. Biotechnologie Biotechnology

#### 1.1. Somatische Zellhybridisierung bei Gemüseformen von *Brassica* Somatic cell hybridization in vegetable forms of *Brassica*

Ryschka, U.; Klocke, E.; Schumann, G.; Scholze, P.; Krämer, R.; Neumann, M.

*In der Gattung Brassica ist die Erhöhung der Widerstandsfähigkeit von Zuchtmaterial gegenüber Krankheiten, die durch unterschiedliche Pathogene verursacht werden, ein Problem. In vielen Fällen sind die Gene für Resistenz nur in Arten, die zu den Nutzpflanzen entfernt verwandt sind, enthalten. Zahlreiche Schwierigkeiten bei der sexuellen Hybridisierung sind stark erfolgslimitierend. Durch Protoplastenfusion können solche Einschränkungen überwunden werden. Die Genome von Brassica oleracea sollen mit den Wildarten unter Verwendung der somatischen Hybridisierung kombiniert werden.*

*In the genus Brassica the increase of resistance in breeding material against diseases caused by different pathogens is a problem. In many cases resistance genes are only available in species distantly related to the crops. However, the success is limited by a lot of problems in sexual hybridization. The limitations can be overcome by using protoplast fusion. The somatic hybridization will be used to combine the genomes of B. oleracea with wild species.*

Zur Übertragung von Resistenzen gegenüber den pilzlichen Krankheitserregern *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* und *Phoma lingam* sowie gegen das Turnip Mosaic Potyvirus (TuMV) in Blumenkohl und Weißkohl mit Hilfe der somatischen Hybridisierung wurde ein aus der Resistenzprüfung erstelltes Sortiment. Die Übertragung der Resistenzen erfolgte durch die Protoplastenfusion mittels PEG zunächst unter Verwendung von Blumenkohl als Akzeptor. Im Verlaufe der Zeit konzentrierten sich die Arbeiten mehr auf den Weißkohl. In den meisten Fällen wurden farblose Hypokotylprotoplasten von Blumenkohl bzw. Weißkohl mit grünen Mesophyllprotoplasten von Arten innerhalb der Gattung und zwischen verschiedenen Gattungen kombiniert. Für die

asymmetrischen Fusionen dienten Protoplasten von Resistenzdonoren; sie wurden mit Röntgenstrahlen behandelt.

Die Identifizierung somatischer Hybride erfolgte mittels morphologischer Merkmale und durch RAPD-PCR-Analysen. Zellmarker zur Selektion von somatischen Hybriden kamen nicht zum Einsatz. Bei einigen Fusionskombinationen führte eine Behandlung der Blumenkohl- oder Weißkohlprotoplasten mit dem Zellgift Jodacetamid dazu, daß nur aus Zellhybriden Pflanzen regenerierten.

### Charakterisierung der Regeneratpflanzen nach Protoplastenfusion

Die Regeneratpflanzen wurden in einem frühen Stadium der Entwicklung mit Hilfe von RAPD-Analysen untersucht, um Entscheidungen über eine Weiterkultur zu treffen. In Fällen einer langen Kallusphase bzw. fehlender morphogenetischer Potenz des Kallus wurde aus kleinen Kallusstücken mit Hilfe einer Schnellmethode DNA für RAPD-Analysen gewonnen, um einen eventuellen Hybridcharakter des Kallusgewebes festzustellen. Die DNA wurde ausschließlich mittels Schnellmethode isoliert. Da die Schnellmethode gegenüber den klassischen Methoden die DNA-Isolierung erheblich vereinfacht, stellte dieser Schritt keinen limitierenden Faktor für anschließende RAPD-Analysen dar.

Für jede Kombination verschiedener Fusionspartner wurden die Fingerprints nach RAPD-PCR mit 20 verschiedenen Primern verglichen. Primer, welche stark unterschiedliche Bandenmuster bei den Fusionspartnern erzeugten, wurden für die Charakterisierung der Regeneratpflanzen ausgewählt. Das Pflanzenscreening mittels RAPD-PCR wurde mit jeweils mindestens vier verschiedenen 10-bp-Zufallsprimern durchgeführt. Nach symme-

trischer Fusion waren die Fusionate in jedem Falle sehr gut am Bandenmuster zu erkennen. Mit allen verwendeten Primern traten bei diesen Fusionspflanzen die typischen Banden beider Eltern auf.

Für die Charakterisierung von Regeneratpflanzen nach asymmetrischer Fusion stellte sich heraus, daß mitunter eine höhere Anzahl Primer notwendig ist, um den Hybridcharakter eindeutig festzustellen. Stark unterschiedliche Bandenmuster der Eltern führen nicht zwangsläufig zu einer guten Identifizierung der Hybridpflanzen. Es ist durchaus möglich, daß mit dem gewählten Zufallsprimer ausschließlich der DNA-Anteil eines Elter in der Hybridpflanze charakterisiert wird. Es kann angenommen werden, daß der Anteil DNA des anderen Elter durch die Vorbehandlung der Protoplasten frühzeitig verlorengegangen ist.

Bei Hybridpflanzen nach asymmetrischer Fusion wurden im RAPD-Fingerprint neben den Banden der Eltern auch neue Banden identifiziert. Ein sehr interessantes Ergebnis war in dieser Hinsicht die somatische Hybridisierung *Brassica oleracea* var. *botrytis* x *B. juncea* (Abb.1). Anhand der Amplifikationsprodukte konnte man deutlich mindestens zwei Typen unterscheiden. Bei dem einen waren die Banden vom Blumenkohlelter fast vollständig vorhanden und nur einige wenige von *B. juncea*. Bei Verwendung des Primers OPA 06 war der Fingerprint bei diesen Pflanzen identisch mit dem des Blumenkohls. Beim zweiten Typ konnte man auch beim Primer OPA 06 Banden von beiden Eltern feststellen. Starke Banden von *B. juncea*, welche beim Typ 1 bei verschiedenen Primern nicht vorhanden waren, waren beim Typ 2 deutlich erkennbar.

Mit weiterer Entwicklung der Regeneratpflanzen konnte man diese beiden Typen anhand der Blattmorphologie auch visuell unterscheiden. Typ 2 entsprach mit seinen stärker gekräuselten Blättern mehr dem *B. juncea*-Typ.

Einige der Regeneratpflanzen nach der Protoplastenfusion *B. oleracea* var. *botrytis* x *B. juncea* fielen nach RAPD-PCR mit intensiven neuen Banden auf. Bisher gelang es nicht, diese neuen Banden mit anderen Merkmalen zu korrelieren.

Um die Reproduzierbarkeit und die Herkunft der amplifizierten DNA nach RAPD-PCR zu untersuchen, wurden zahlreiche methodische Versuche durchgeführt. Für diese Untersuchungen wurde neben der nach der Schnellmethode isolierten DNA hochgereinigte Kern-DNA für RAPD-Analysen eingesetzt. Bei 20 verschiedenen Dekamerprimern wurden von beiden DNA-Proben identische Fingerprints erhalten. Der Anteil mtDNA und cpDNA, welcher nach Schnellextraktion mit isoliert wird und auch mittels spezifischer Sonden nachgewiesen werden konnte, ist offensichtlich zu gering, um einen Einfluß auf die Bandenmuster nach RAPD-PCR zu haben. Dies unterstreicht die hohe Qualität der nach Schnellisolation erhaltenen DNA. In ersten

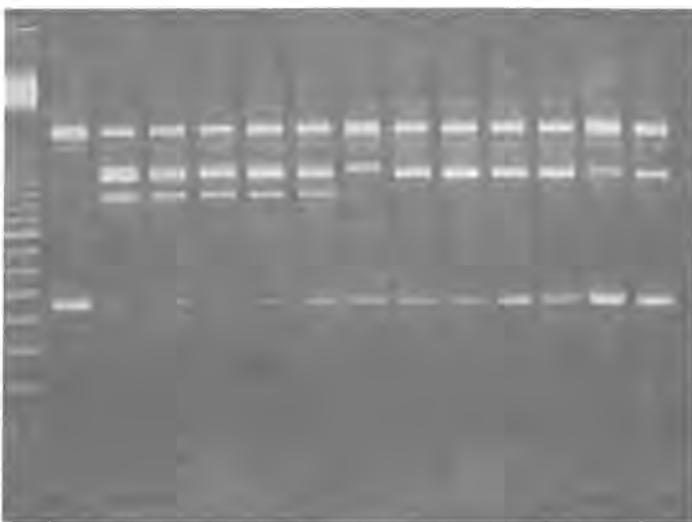


Abb.1: RAPD-Fingerprint mit Primer OPA 19 nach asymmetrischer Protoplastenfusion *B. oleracea* var. *botrytis* x *B. juncea*; Spur 1: 100-bp-Leiter, Spur 2: *B. oleracea* var. *botrytis*, Spur 3: *B. juncea*, Spur 4 bis 14: Hybridpflanzen mit verschiedenen Anteilen elterlicher Banden

Versuchen wurden diese DNA-Präparate auch für die nichtradioaktive Southern-Hybridisierung erfolgreich genutzt. Durch Verwendung von Sonden für die mtDNA konnte für Fusionate nach somatischer Hybridisierung *B. oleracea* var. *capitata* x *B. carinata* eine hohe Neukombinationsrate des Chondrioms festgestellt werden. Diese Versuche werden weiter fortgeführt.

### Erste Fertilitätsuntersuchungen und Resistenzprüfungen der somatischen Hybride

Jede identifizierte Hybridpflanze wurde in vitro kloniert, in Erde überführt und gegenüber den verschiedenen Pathogenen getestet. Ein Teil der klonierten Pflanzen blühte im Gewächshaus frei ab, einige Pflanzen wurden geselbstet und andere mit Blumenkohl rückgekreuzt. Der Samenansatz der Rückkreuzungen und der Selbstungen war äußerst gering, während von einigen frei abgeblühten Pflanzen für weitere Untersuchungen Samenkörner geerntet werden konnten. Die Ergebnisse sind in der Tabelle 1 zusammengefaßt. Die hier dargestellten Hybridpflanzen mit Resistenzen der Kombinationen *B. oleracea* var. *botrytis* x *B. nigra* und *B. oleracea* var. *botrytis* x *B. juncea* besitzen eine Widerstandsfähigkeit gegenüber allen 3 getesteten pilzlichen Pathogenen, nicht aber gegen das TuMV. Von den resistenten Hybridpflanzen der ersten Kombination konnten insgesamt 47 Samenkörner und von der zweiten Kombination 18 Samenkörner geerntet werden. Von der Kombination *B. oleracea* var. *botrytis* x *Raphanus sativus* konnte bisher eine virusresi-

stente Hybridlinie identifiziert werden, die Gesamttestungen sind noch nicht abgeschlossen. Die Untersuchungen des Resistenzverhaltens der gewonnenen Weißkohlhymbride stehen noch aus.

#### Abstract:

Somatic hybrids were produced by PEG-induced symmetric and asymmetric fusions. Protoplasts from *Brassica oleracea* var. *botrytis* or var. *capitata* were used as recipient and protoplasts from *Sinapis*, *B. nigra*, *B. juncea*, *B. carinata* and *Raphanus sativus* were used as donor fusions partners. Putative symmetric and asymmetric hybrid plants were separated depending on morphology and characterized by RAPD-PCR analysis. The identified somatic hybrids were multiplied in vitro and transferred to soil. Until now it could be found from the fusion combination *B. oleracea* var. *botrytis* x *B. nigra* 4 hybrids and from the combination *B. oleracea* var. *botrytis* x *B. juncea* 3 somatic hybrids with resistance to the pathogens *Alternaria brassicea*, *A. brassicicola*, and *Phoma lingam*. One hybrid line with resistance to the Turnip Mosaic Potyvirus was obtained by the protoplast fusion *B. oleracea* var. *botrytis* x *Raphanus sativus*. Different hybrid lines did set any seeds after flowering.

(BAZ-1103, 1104)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Löptien, GZG, Marne; Dorokhov, VNISSOK, Odinzovo, Rußland 133

Tab.1: Anzahl der Regeneratpflanzen, die nach verschiedenen Protoplastenfusionen erhalten wurden, sowie der mittels RAPD-PCR charakterisierten Hybridpflanzen und der gefundenen Hybridpflanzen mit Resistenzen

| Art der Fusion  | Anzahl der Regenerate | Anzahl charakterisierter somatischer Hybridpflanzen | Anzahl der Hybridpflanzen mit Resistenzen* | Anzahl der geernteten Samenkörner <sup>o</sup> |
|---|-----------------------|---|--|--|
| <b>Asymmetrische Fusion</b>                                       |                       |   |  |  |
| <i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. nigra</i>   | 486                   | 32  | 4*   | 370  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. carinata</i>      | 374                   | 31  | 0  | 0  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>Sinapis alba</i>     | 466                   | 24  | 0  | 0  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. juncea</i>        | 75                    | 71  | 3*   | 92   |
| <b>Symmetrische Fusion</b>  |                       |   |  |  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. juncea</i>        | 157                   | 4   | 0  | 0  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>S. alba</i>          | 200                   | 2   | 0  | 0  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>Raphanus sativus</i> | 16                    | 16  | 1 <sup>+</sup>                             |  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> x <i>B. carinata</i>      | 21                    | 5   | noch nicht getestet                        |  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> x <i>S. alba</i>          | 16                    | 14  | noch nicht getestet                        |  |
| <i>B. oleracea</i> var. <i>capitata</i> x <i>R. sativus</i>       | 13                    | 10  | noch nicht getestet                        |  |

\* Resistenz gegen *Phoma lingam*, *Alternaria brassicea* und *Alternaria brassicicola*

<sup>+</sup> Resistenz gegen Turnip Mosaic Potyvirus (TuMV)

<sup>o</sup> Gesamtsumme der von frei abgeblühten Hybridpflanzen geernteten Samenkörner

## 1.2. Etablierung von In-vitro-Techniken für die somatische Hybridisierung innerhalb der Gattung *Allium*

### Establishment of in vitro techniques for the somatic hybridization in the genus *Allium*

Schumann, G.; Ryschka, U.

Die  $F_1$ -Hybridzüchtung basiert auf einem System mit cytoplasmatisch männlicher Sterilität (cms). In *Porree* ist bislang keine solche cms-Quelle bekannt. Die Übertragung der cms durch somatische Cybridisation könnte dieses Problem lösen, jedoch sind Standardverfahren für Wachstum und Regeneration von Mesophyllprotoplasten bei *Porree* bis jetzt nicht verfügbar. Ziel dieser Arbeiten ist die Etablierung embryogener Zellsuspensionen und nachfolgend die Entwicklung einer Methode zur Regeneration von Pflanzen aus Protoplasten.

*F<sub>1</sub>-hybrid breeding bases on a system with cytoplasmic male sterility (cms), but unfortunately, no source of cms is known in leek up to now. Transfer of cms via somatic cybridization may overcome this problem. Standard procedures of growth and regeneration of leek mesophyll protoplasts are not yet available. The aim of this work is the establishment of an embryogenic cell suspension and subsequently the development of a procedure for the regeneration of plants from protoplasts.*

Ausgehend von den Befunden zur Kallusinduktion aus Samen von *Allium porrum* wurden die Versuche zur Etablierung von morphogenen Zellsuspensionen fortgesetzt. Im Rahmen dieser Arbeiten fiel auf, daß annähernd 70 % der induzierten Kallusgewebe nach 2maliger Subkultur endophytisch kontaminiert waren. Da grundsätzlich eine gleichmäßige Durchseuchung aller Kallusgewebe, ungeachtet ihrer morphologischen und strukturellen Beschaffenheit, vorlag, mußte nach geeigneten Möglichkeiten zur Endophyteneliminierung gesucht werden. Zunächst wurde deutlich, daß isolierte reife Embryonen stets Kalli mit signifikant höherer Kontamination proliferierten als vergleichsweise Embryonen, die auf dem Induktionsmedium aus Samen keimten und keinerlei mechanisch-präparativer Belastung ausgesetzt waren. Da es sich mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit um samen-

übertragbare Endophyten handelt, wird von einer Übertragung durch das Endosperm ausgegangen. Während der Induktionsphase des Primärkallus zeigte sich, daß bei einer Inkubationstemperatur von 21 °C, gegenüber der sonst angewandten Standardtemperatur von 25 °C, in Abhängigkeit vom jeweiligen Genotyp, die Kontaminationsraten zwischen 55,67...74,64 % lagen. Bei einer Temperatur von 25 °C waren dagegen nur 9,18...22,90 % der Primärkalli kontaminiert. Mit zunehmender Kulturdauer verwischte sich dieser Unterschied. Nach 2 Kalluspassagen betrug die Durchseuchungsrate unabhängig von der Inkubationstemperatur 40,26...61,48 %.

Detaillierte Untersuchungen zur Isolierung der bakteriellen Endophyten in Reinkultur ergeben zwei, in ihren Temperaturanforderungen deutlich voneinander abweichende, Keime. Nach mikrobiologischer Klassifizierung konnten *Pseudomonas spec.* und *Acinetobacter spec.* determiniert werden. In einem sich anschließenden Genotypenscreening wurden 43 Sorten zum Teil unterschiedlicher Herkunft auf ihre Infektion geprüft. Die Kontaminationsraten lagen bei den insgesamt untersuchten 52 Typen zwischen 10,00...46,66 % (nach 4wöchiger Inkubation). Da der Durchseuchungsgrad der Kallusgewebe grundsätzlich mit der Kulturdauer zunimmt und für die Suspensionsetablierung eine geeignete Quantität notwendig ist, konnte auf die Applikation von Antibiotika nicht verzichtet werden.

Als Kompromiß zwischen der Pflanzen- und Gewebeverträglichkeit einerseits und der bakteriellen Wirkung auf *Pseudomonas* und *Acinetobacter* andererseits wurde aus der Gruppe der zyklischen  $\beta$ -Lactam-Antibiotika das Derivat Cefotaxim gewählt. Durch die kurze Halbwertszeit von 2 h und die relativ gute In-vitro-Wirksamkeit, speziell auf *Pseudomonas*, aber auch auf *Acinetobacter*, ist Cefotaxim im Vergleich zu anderen Cephalosporinen deutlich geeigneter.

Auf dieser Grundlage gelang die Etablierung endophytenfreier Kalluskulturen (Abb. 1). Nachteilig ist in diesem Zusammenhang das vergleichsweise langsame Wachstum der Kalluskulturen, das darüber hinaus durch die notwendige Antibiotikabehandlung in der Proliferation zusätzlich beeinträchtigt wird.

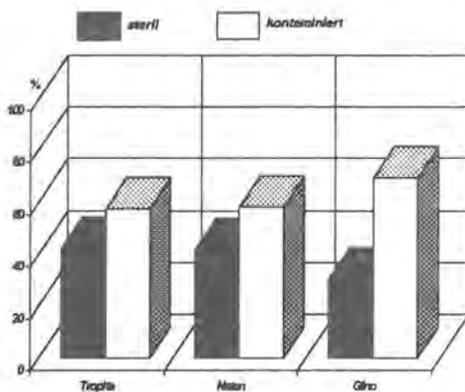
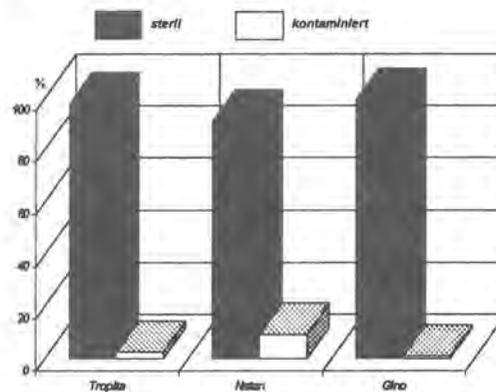


Abb 1: Bakterielle Kontamination nach 14tägiger Kulturdauer auf Medium ohne Antibiotikum bei 21 °C



Bakterielle Kontamination nach 14tägiger Kulturdauer auf Medium mit Cefotaxim bei 21 °C

Bislang gelang es nur bei der Sorte 'Tropita' vier Zelllinien zu etablieren. Bei diesen Suspensionen wurde von Kallus ausgegangen, der 6 Monate und älter war. Alle Versuche, durch direkte Verwendung von Primärkallus Suspensionen anzuschütteln, führten stets zur Bildung sehr langgestreckter, tubulärer, stark vakuolierter Zellen.

In weiteren Experimenten sollen andere Kallusinduktionsmedien, Suspensionsmedien und insbesondere Wachstumsregulatoren unterschiedlicher Kombination und Konzentration getestet werden.

#### Abstract:

Callus tissue derived from mature embryos of *Allium* were used as starting material for cell suspension cultures. Because of a chronic contamination with endophytic bacterias, the yield of callus tissue, their survival in culture by temperatures of 21 °C and 25 °C, as well as the application of antibiotics were studied for 52 genotypes. It was possible to classify *Pseudomonas spec.* and *Acinetobacter spec.* as contaminating microorganisms. Adding ceftazidim, a  $\beta$ -lactam antibiotic, repressed the outburst of contamination. Endophytic free cell suspension cultures were initiated from friable nodule callus tissue of the variety 'Tropita' after 6 month callus culture.

(BAZ-1106)

In Zusammenarbeit mit: Peterka, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

134

## 2. Resistenzforschung Resistance Research

### 2.1. Etablierung und Anpassung von Methoden zur Resistenzprüfung in Gemüseformen von Brassicaceae gegen das Turnip-mosaic-virus (TuMV) Application and further development of methods for evaluation of Brassicaceae vegetable forms for resistance to turnip mosaic virus (TuMV) Krämer, R.

*Etablierung und Anpassung von Methoden zur Resistenzprüfung und -selektion bei verschiedenen Gemüseformen von Brassicaceae gegen das Turnip-mosaic-virus (TuMV). Charakterisierung und Differenzierung der TuMV-Isolate im Hinblick auf Pathotypen bzw. Stämme zur Resistenzprüfung unter Nutzung von Wirtspflanzen und eines Differentialsortiments. Anwendung von biologischen und serologischen Methoden (Immunoassays) für den Virusnachweis in Pflanzen sowie zur Resistenzfrüherkennung.*

*Application and further development of methods for resistance evaluation and selection of different cruciferous vegetables to turnip mosaic virus (TuMV). Characterization and differentiation (pathotypes, strains) of the TuMV isolates for the resistance screening using a broad spectrum of host plants and differential hosts.*

*Application of biological and serological methods (immunoassays) for the virus detection in the plants and for early resistance evaluation.*

Mit der Zielsetzung, die Resistenzprüfung von *Brassica* gegen das TuMV zu optimieren, wurden weitere Faktoren, von denen die Ausprägung der quantitativen Resistenz abhängen kann, untersucht: Infektionsdosis; Inokulationsmethoden (mechanisch); Entwicklungsstadium der Pflanzen; Virulenz der Virusisolate (Einzelisolate - Isolategemisch). Als Kriterien zur Resistenzbewertung dienten die Symptomausprägung (Boniturstufen 1 bis 9), die Infektionsrate (% infizierte Pflanzen) sowie die postinfektionelle Viruskonzentration in den Pflanzen (DAS-ELISA). Die Resultate (*Brassica oleracea*; *B. rapa*) können wie folgt zusammengefaßt werden:

- **Inokulationsmethode:** Anhand der Kriterien konnten keine Unterschiede zwischen Abreibung und Preßluftinokulation festgestellt werden, ebenso nicht zwischen ein- und zweimaliger Inokulation. Die Infektionsrate war auch nach zweimaliger Inokulation der Pflanzen nicht erhöht. Die Inokulationseffizienz wird durch Preßluft bedeutend gesteigert (Einsatz Masenscreening).
- **Infektionsdosis:** Die Wirkung des Inokulums (*B. rapa ssp. pekinensis*/TuMV) wurde in unterschiedlichen Verdünnungsstufen von 1:3 bis 1:1000 (w/v) getestet. Im Bereich der Verdünnungen 1:3 bis 1:10 war eine optimale Differenzierung der Genotypen möglich. Bei stärkeren Verdünnungen (1:50 bis 1:1000) gingen sowohl die Infektionsraten als auch die Viruskonzentrationen zurück.
- **Physiologisches Entwicklungsstadium der Pflanzen:** Für eine Resistenzfrüherkennung nach mechanischer Virusübertragung eignen sich Pflanzen vom Ein- bis Zweiblattstadium bis zum Vier- bis Fünfblattstadium. Im Kotyledonenstadium ist Resistenz offensichtlich noch nicht ausgeprägt, während andererseits mit zunehmendem Pflanzenalter (ab Neun- bis Zehnblattstadium) die Sensitivität gegen das TuMV sinkt (Infektionsraten teilweise bei 20 %).
- **Einzelisolate - Isolategemisch:** Zur Verifizierung selektierter TuMV-Resistenz wurden unterschiedlich virulente Isolate vergleichsweise als Einzelisolate und als Isolategemisch eingesetzt. Durch die Verwendung eines Isolategemisches (4 Isolate) konnten gegenüber den 4 Einzelisolaten keine wesentlich höheren Infektionsraten (anfälliger Genotyp 90 %...100 %; mäßig resistenter Genotyp 40 %...70 %) erzielt werden. Bei anfälligen Genotypen bewirkte das Isolategemisch eine stärkere Symptomausprägung sowie eine vergleichsweise höhere postinfektionelle Viruskonzentration in den Pflanzen. Bei weniger anfälligen Genotypen wurde das Resistenzverhalten durch das Isolategemisch nicht verändert. Bei der Etablierung von TuMV-Resistenz in *Brassica* sollten Isolategemische ggf. erst in fortgeschrittenen Selektionsphasen (charakterisiertes Material; Nachkommenschaften) eingesetzt werden. Für eine schnelle qualitative Resi-

stanzbewertung im Gewächshaus oder Freiland kann neben der Sichtbonitur auch der DTBA (direct tissue blotting assay) zur Selektion resistenten Materials eingesetzt werden. Die Nachweissicherheit des DTBA in Relation zum DAS-ELISA lag zwischen 88,2 und 94,6 % (270 Proben).

Die methodischen Arbeiten zur Resistenzbewertung von *Brassica* gegen das TuMV werden in Richtung Vektoreinsatz (Aphiden) fortgesetzt.

#### Abstract:

Different factors that might influence the determination of the quantitative resistance of *Brassica* to TuMV have been investigated. The disease symptom severity (symptom scoring), infection rate (%), and the relative virus concentration have been used as criteria for evaluation of resistance. The results in *Brassica oleracea* and *B. rapa* can be summarized as follows:

- **Inoculation methods:** there were found no differences between rubbing of the leaves and the air-brush technique.
- **Infections dosis:** dilution of the inoculum of 1:3 up to 1:10 (w/v) give the best results in differentiation of the genotypes. Growth stages of the plants: after mechanical inoculation, the best growth stages for differentiation of TuMV-resistance are the one to two leaf stage up to the four to five leaf stage.
- **Single isolate - isolate mixture:** in susceptible genotypes the virulence of the isolate mixture was higher than using single isolates - for resistance selection an isolate mixture should be used in a late step of screening. With the DTBA (direct tissue blotting assay) there was established a method for the fast qualitative evaluation of resistance (correspondence ELISA - DTBA; 88,2 %...94,6 %).

(BAZ-1109)

In Zusammenarbeit mit: Rabenstein, Proll, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben

135

## 2.2. Screening von Gemüseformen der *Brassicaceae* als Voraussetzung zur Aufklärung des Resistenztyps und zur Erstellung von Resistenzdonoren gegen das Turnip-mosaic-virus (TuMV)

### Evaluation of *Brassicaceae* vegetable forms for resistance to turnip mosaic virus as a prerequisite to elucidate the type of resistance and to generate resistance donors

Krämer, R.; Klocke, E.; Neumann, M.; Schumann, G.

Entwicklung von Basismaterial bei *Brassica*, insbesondere Kopfkohl, mit Toleranz und/oder Resistenz gegen das Turnip-mosaic-virus (TuMV). Auffinden von TuMV-Resistenzdonoren durch Screening eines breiten Spektrums von Gemüseformen der *Brassicaceae* (kommerzielle Sorten, Genbankmaterial, Hybridmaterial, In-vitro-Kultur-Material) sowie durch die Analyse des Resistenztyps.

*Development of basic material in Brassica (head cabbage) with tolerance and/or resistance to turnip mosaic potyvirus (TuMV). Search for TuMV resistance donors by screening of a broad spectrum of Brassicaceae vegetable forms (commercial cultivars, genebank material, hybrids, material from in vitro cultures) and by analysing the type of resistance.*

In Fortsetzung der Arbeiten zur Etablierung von TuMV-Resistenz in *Brassica* wurden weitere potentielle Resistenzquellen in *Brassica* und *Raphanus* gefunden sowie bereits selektierte Resistenz durch wiederholtes Screening verifiziert und erste Nachkommenschaftsprüfungen durchgeführt. In *B. rapa* ssp. *pekinensis* konnten 2 Herkünfte (asiatischer Raum) mit Resistenz gegen ein hoch virulentes TuMV-Isolat selektiert werden. Des Weiteren wurden in *Raphanus sativus* 5 Formen mit ausgeprägter Resistenz (Infektionsraten 0 % bis 25 %;  $E_{405\text{ nm}} = 0$  bis 0,16) gegen ein TuMV-Isolat gefunden. Die Resistenz aus *Raphanus*, die sich teilweise auch auf pilzliche Pathogene erstreckt, soll durch Protoplastenfusion in *Brassica* transferiert werden. In ersten Nachkommenschaftsprüfungen (Selbstungen) von insgesamt 7 Weiß- und 8 Wirsingkohllinien zeigten sich in Relation zum Ausgangsmaterial Unterschiede im Resistenzniveau. Bei 2 Weißkohllinien (28,6 %) sowie bei 3 Wirsingkohllinien (37,5 %) war das Resistenzniveau höher (geringere Infektionsrate, Symptomstärke, Viruskonzentration) als das des Ausgangsmaterials. Zur Verifizierung der Resistenzstabilität ausgewählter *Brassica*-Bastarde erfolgte eine wiederholte Prüfung des Materials unter Freilandbedingungen. Die TuMV-Resistenz (1 hoch virulentes Isolat) von 3 *Raphanobrassica*-Bastarden (C121; C122; C124) bestätigte sich (Pflanzen symptomlos; ELISA negativ). Darüber hinaus erwies sich ein weiterer *Raphanobrassica*-Bastard (C114) als TuMV-resistent. Ein Vergleich des Resistenzverhaltens der Eltern zeigt, daß die TuMV-Resistenz offensichtlich in *Raphanus* lokalisiert ist. Die Resistenz der 4 *Raphanobrassica*-Bastarde bestätigte sich auch unter natürlichem Befallsdruck (Parallelversuch, BAZ Aschersleben). Bisherige Daten zur Charakterisierung der TuMV-Resistenz in Jungpflanzen (5- bis 10-Blattstadium) von *Brassica oleracea* var. *sabauda* (1 Genotyp) zeigen an, daß die Resistenz offensichtlich eher auf einer Hemmung der Virusausbreitung (untere Blätter:  $E_{405\text{ nm}} 1,00...1,35$ ; obere Blätter: virusfrei) als auf einer reduzierten Virusvermehrung beruhen könnte. Das Resistenzverhalten selektierter Genotypen sowie das von Einzelpflanzennachkommenschaften wird gegen weitere aktuelle TuMV-Isolate (ggf. Isolatgemisch) untersucht. Neben der mechanischen Inokulation (Abreibung oder Preßluft) wird die Resistenz auch nach Vektorübertragung (Aphiden) bewertet werden.

#### Abstract:

In *Brassica rapa* ssp. *pekinensis* there were found 2 accessions (from Asia) and in *Raphanus sativus* 5 forms with resistance to 1 TuMV isolate under greenhouse conditions. The progeny test (greenhouse) of 15 selected white cabbage respectively savoy cabbage lines (7 white

cabbage; 8 savoy cabbage) showed different resistance reactions. The level of resistance was increased in 2 white cabbage lines (28,6 %) and 3 savoy cabbage lines (37,5 %). Resistance to 1 TuMV isolate was found in 4 *Raphanobrassica*-hybrids under field conditions. The resistance in the hybrids arises probably from *Raphanus*. Investigations to characterize the TuMV-resistance (ELISA) in a savoy cabbage suggested that the resistance might result in an inhibition of the virus movement in the plant.

(BAZ-1110)

In Zusammenarbeit mit: Clauß, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Hammer, Genbank, IPK, Gatersleben

136

### 2.3. Recherchen nach Donoren mit Resistenz gegen *Alternaria* und *Phoma* in Herkünften von *Brassicaceae*

Search for donors with resistance to *Alternaria* and *Phoma* in *Brassicaceae* accessions  
Scholze, P.

Mit einem neu entwickelten effektiven Screeningverfahren werden Herkünfte kultivierter Gemüse-*Brassicaceae* (Sorten, Linien, Kreuzungsnachkommenschaften etc.) und Wildformen, insbesondere aus der Genbank des IPK Gatersleben, sowie Regenerate aus Fusionen nach ihrer Reaktion gegenüber aggressiven Isolat von *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* und *Phoma lingam* geprüft. Resistenzdonoren werden für die weitere Bearbeitung zur Herstellung von resistentem Basismaterial für die Züchtung ausgewiesen.

With using of a novel effective screening technique accessions of cultivated vegetable *Brassicaceae* (cultivars, lines, progenies from crossing etc.), and wild relatives, especially received from the genebank of the IPK Gatersleben, as well as regenerates from somatic hybridizations will be tested for reactions against aggressive isolates of *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae*, and *Phoma lingam*. Resistencedonors will be selected for further treatment in order to produce resistant basic material for breeding.

Im Berichtszeitraum wurde umfangreiches Material der Familie *Brassicaceae* mit einem im Jahre 1993 entwickelten Simultanverfahren gegen jeweils ein aggressives Isolat von *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* und *Phoma lingam* auf Resistenz evaluiert.

Das Prüfsortiment setzte sich überwiegend aus *Brassica oleracea*-Herkünften aus dem Genreservoir des IPK Gatersleben (226 Sippen) sowie einer Serie von 133 Klonen von Primitivsorten westeuropäisch-atlantischer Provenienz zusammen. Darüber hinaus wurden neben mehr als 40 Herkünften von *Brassica rapa* und *B. napus* var. *napobrassica* 65 Sippen aus unterschiedlichen Gattungen der Familie *Brassicaceae*, einschließlich weitverbreiteter Vertreter der heimischen Unkrautflora, mit dem Ziel, Mehrfachresistenzen aufzufinden, geprüft. Neben

Evaluierungsaufgaben waren erstmalig in größerem Umfang Regenerate aus Protoplastenfusionen hinsichtlich ihres Resistenzverhaltens zu charakterisieren. In dem gesamten *Brassica oleracea*-Material aus dem Genreservoir Gatersleben waren keine Herkünfte bzw. Einzelpflanzen mit Resistenz gegen die *Alternarien* und *Phoma* nachzuweisen. Bei den Primitivformen zeichnete sich eine Art mit erhöhter Variabilität im Anfälligkeitsverhalten gegen *A. brassicae* aus. Um die Gültigkeit dieser Befunde zu überprüfen, sollen, trotz andererseits hoher Anfälligkeit gegen *A. brassicicola*, noch weitere Untersuchungen an dem Material durchgeführt werden.

Hochanfällig reagierten auch alle Herkünfte von *Brassica rapa* var. *rapa*, *B. napus* sowie *B. napus* var. *napobrassica*. Erhebliche Variabilitäten bei den Resistenz- bzw. Anfälligkeitsausprägungen zeigten sich bei den z. T. als Zierpflanzen genutzten, zumeist aber freiwachsenden Vertretern verschiedener Gattungen der *Brassicaceae*. Sie reichten, in erregerdifferenzierter Virulenz, artspezifisch von hochanfällig (viele Herkünfte von *Crambe spec.* und *Eruca sativa*, *Isatis tinctoria*, *I. glauca*) bis zu absoluter Resistenz (alle Herkünfte von *Camelina sativa*, *Matthiola incana*, *Capsella grandiflora* und *C. bursa-pastoris*). Einfachresistenzen waren gegen *A. brassicae* (sechs Herkünfte von *Crambe abyssinica*) und *Phoma* (*Barbarea intermedia*, *Brassica narinosa*, *B. oxyrrhina*, *B. tournefortii*), Zweifachresistenzen gegen jeweils eine *Alternaria spec.* und *Phoma* (mehrere Herkünfte von *Crambe hispanica* und *Eruca sativa*, *Brassica elongata*, *B. souliei*), Dreifachresistenzen gegen beide *Alternaria spec.* und *Phoma* (alle Herkünfte von *Capsella bursa-pastoris*, *C. grandiflora* und *Camelina spec.*, die meisten Linien von *Lepidium ruderale* und *L. sativum*, *Hesperis matronalis*, *Matthiola incana*) sowie Dreifachresistenzen plus Resistenz gegen Kohlhernie vorhanden. Das Material soll weiter evaluiert und die als resistent ausgewiesenen Sippen hinsichtlich ihrer Nutzbarkeit als Partner bei der somatischen Hybridisierung mit der Zielstellung, die Variabilität der Resistenz zu erweitern, bewertet werden. Aus Protoplastenfusionen der Kombinationen *Brassica nigra* x Blumenkohl, *B. juncea* x Blumenkohl, *B. carinata* x Blumenkohl und Radies x Blumenkohl wurden bislang mehr als 200 Regenerate mit einer einfachen In-vitro-Screening-Technik simultan geprüft. Einzelpflanzen mit im Vergleich zu den resistenzführenden Spenderpartnern *B. nigra* und *B. juncea* wesentlich verbesserter Mehrfachresistenz gegen alle drei Erreger ließen sich ermitteln. An mehrjährigen Rückkreuzungs- und Selbstungsnachkommenschaften von *Sinapis alba* x Blumenkohl-Fusionshybriden waren im Berichtszeitraum 178 Einzelpflanzen in bezug auf ihr Resistenzverhalten zu überprüfen. Während sich bei einigen Nachkommenschaften die Resistenz kontinuierlich und erregerstabil weitervererbt hatte und infolgedessen eine gelungene Introgression von *Sinapis*-Information in das *B. oleracea*-Genom zu vermuten ist, reagierten vergleichbare Nachkommenschaften abweichend im Vergleich zur Ausgangsform der vorangegangenen Generation, ein

Fakt, dem möglicherweise erregerebedingte, im einzelnen noch zu klärende Ursachen zugrunde liegen.

**Abstract:**

In 1995 the resistance evaluations, started in 1994 with aggressive isolates of *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* und *Phoma lingam*, were continued. All accessions of *Brassica oleracea* (226, received from the genebank of the IPK Gatersleben, 133 clones of 20 entries of primitive species of Western-Atlantic Europe origin, *B. rapa* var. *rapa*, *B. rapa* var. *oleifera*, and *B. napus* var. *napobrassica* (more than 40 varieties/lines) have been shown as reacting highly susceptible. Remarkable variability in resistance manifestation was found in a series of wild relatives of the family of the *Brassicaceae*, which involve some ornamental and many regional and worldwide distributed weeds. Most of the *Crambe* sp., *Eruca sativa*, *Isatis tinctoria*, *I. glauca* a.o.) reacted highly susceptible, whereas all accessions of, for instance, *Camelina sativa*, *Matthiola incana*, *Capsella grandiflora*, *C. bursa pastoris*, showed immunity or high resistance. Some of the introductions were only resistant against one of the *Alternaria* pathogens and *Phoma*, respectively, some others showed resistance to all of the pathogens as especially represented by *Capsella bursa-pastoris*, *C. grandiflora*, the *Camelina* spec., *Lepidium ruderales*, *L. sativum*, and *Hesperis matronalis*. In the last year, too, resistance screening of progenies produced via somatic hybridization (protoplast fusion) was intensified. More than 370 regenerates from combinations between *Brassica nigra*, *B. juncea*, *B. carinata* and radish with cauliflower as well as several single plants of progenies from backcrossing and selfcrossing with *Sinapis alba* information were tested. Single plants with resistance only to *Alternaria* pathogens or *Phoma* or as well as with relatively high resistance to all pathogens involved have been selected.

(BAZ-1124)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK, Gatersleben; Clauß, Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

137

**2.4. Recherchen nach Donoren mit Resistenz gegen *Plasmiodiophora brassicaceae* in Herkünften der *Brassicaceae***

**Search for donors with resistance to *Plasmiodiophora brassicaceae* in *Brassicaceae* accessions**  
Scholze, P.

Mit einem konventionellen Prüfverfahren werden Herkünfte kultivierter Gemüse-*Brassicaceae* (Sorten, Linien, Kreuzungsnachkommenschaften etc.) und Wildformen, insbesondere aus der Genbank des IPK Gatersleben, sowie Regenerate aus Fusionen nach ihrer Reaktion gegenüber mehreren Rassen von *Plasmiodiophora brassicaceae* geprüft. Resistenzdonoren werden für die weitere Bearbeitung zur Herstellung von Basismaterial für die Züchtung ausgewiesen.

With using of a conventional screening technique accessions of cultivated vegetable *Brassicaceae* (cultivars, lines, crossing progenies etc.), and wild relatives, especially received from the genebank of the IPK Gatersleben, as well as regenerates from somatic hybridizations will be tested for reactions against several races of *Plasmiodiophora brassicaceae*. Resistance donors will be selected for further treatment in order to produce basic material for breeding.

Im Berichtszeitraum wurden die im Jahre 1994 begonnenen Recherchen nach Resistenzträgern bei *Plasmiodiophora* fortgesetzt.

Für die Screenings standen zwei charakterisierte Erregerherkünfte aus Marne (ECD 16/07/12), von Weißkohl isoliert, und aus Glückstadt (ECD 16/14/31), von Chinakohl isoliert, zur Verfügung. In die Recherchen waren insbesondere Herkünfte aus dem IPK Gatersleben einbezogen. Sie umfaßten ein umfangreiches Sortiment sowohl samenechter Linien und Sorten als auch einige F<sub>1</sub>-Hybriden von *Brassica oleracea*, einige Herkünfte von *B. rapa* sowie mehr als 60 Sippen aus unterschiedlichen Gattungen der Familie *Brassicaceae*, einschließlich weitverbreiteter Vertreter der heimischen Unkrautflora, mit dem Ziel, nach Mehrfachresistenzen zu suchen.

Von den 178 geprüften *Brassica oleracea*-Herkünften konnten 250 Pflanzen (9,3 %) mit Resistenz (Befallsklasse 0/1 der 9-stufigen Boniturskala) ermittelt werden. Die höchsten Anteile fanden sich erwartungsgemäß bei *B. oleracea* var. *sabellica* und var. *sabauda* (Grün- bzw. Wirsingkohl) mit jeweils 35,7 % bzw. 12,6 %, bezogen auf den Gesamtumfang der in der entsprechenden Prüfgruppe bewerteten Einzelpflanzen aller einbezogenen Sortimentsnummern. Bei Kopfkohl ließen sich bei 1629 geprüften Pflanzen von 105 untersuchten Linien/Sorten 107 (6,6 %) resistente Einzelpflanzen ermitteln.

15 Blumenkohlherkünfte erwiesen sich dagegen als hochanfällig. Von 27 *Brassica rapa*-Sortimentsnummern reagierten 6 Sorten innerhalb der var. *rapa*, 4 Rübsensorten und die japanischen Chinakohlarten 'Marquis', 'Shinki' und 'Chorus' immun bzw. hochresistent. Große Variabilität der Resistenz- bzw. Anfälligkeitsmanifestierung war bei den z. T. als Zierpflanzen genutzten, zumeist aber freiwachsenden, Vertretern verschiedener Gattungen der *Brassicaceae* zu konstatieren. Bei 49 als anfällig eingestuften Sippen bewegte sich das Reaktionsspektrum von hochanfällig (z. B. alle *Crambe abyssinica*-, *Camelina sativa*- und *Lepidium ruderales*-Arten, *Eruca sativa*) über moderaten Befall (Sippen von *Capsella bursa-pastoris*, *Brassica souliei*, *Hesperis matronalis*) zu stark verminderter Krankheitsausprägung (Boniturnwerte von 2/3 bei einigen anderen Sippen von *Capsella bursa-pastoris*, *Isatis glauca*, *Thlaspi arvense*, *Brassica fruticulosa* und *Crambe hispanica*). Die Ergebnisse bestätigen die potentiell epidemiologische Relevanz kreuzblütiger Florenelemente bei der Überhaltung der Kohlhernie inner- und außerhalb der Anbauflächen kultivierter Gemüse- und Öl-*Brassicaceae*. 16 Herkünfte des geprüften 'Wildpflanzen'-Sortiments erwiesen sich als immun bzw. hochresistent. Während einige Sippen

(*Capsella bursa-pastoris*, *Thlaspi arvense*, *Lepidium latifolium* u.a.) lediglich gegenüber Kohlhernie resistent reagierten, waren andere Herkünfte außerdem widerstandsfähig gegen Blattkrankheiten: eine Sippe von *Lepidium sativum* gegen *Alternaria brassicicola*, eine Sippe von *Brassica nigra* gegen *Alternaria brassicae* und *Phoma lingam* sowie je eine Sippe von *Lepidium sativum*, *Sisymbrium officinale*, *Barbarea vulgaris* und *B. verna* zusätzlich gegen beide *Alternaria*-Erreger und *Phoma*. Neben den Sortimentsprüfungen wurde der Beschaffung, Virulenzsystematisierung und Vermehrung von Erregerisolaten besondere Aufmerksamkeit gewidmet. Die Arbeitsgruppe verfügt z. Z. über ausreichende Inokulatmengen bei mindestens zehn aus dem Bundesgebiet, der Schweiz bzw. Rußland bezogenen und nach dem ECD-Differentialset charakterisierten Isolaten. Sie sollen in nachfolgenden Aufgabenstellungen für weiterführende und tiefergründigere Bewertungen des resistenten Materials, die Ermittlung von Donoren mit Mehrfach- (möglichst unspezifischer)-Resistenz gegen mehrere Isolate sowie für resistenzgenetische Analysen genutzt werden.

#### Abstract:

In 1995 resistance evaluations with material received from the genebank of the IPK Gatersleben were continued. Especially in introductions of *Brassica oleracea* var. *sabellica*, var. *sabauda* and var. *capitata* 250 single plants scoring 0/1 have been detected, whereas all lines/varieties of cauliflower were susceptible. From 27 *Brassica*-introductions six varieties of var. *rapa*, four varieties of var. *oleifera* as well as the Japanese varieties 'Marquis', 'Shinki' and 'Chorus' were immune or highly resistant. 49 species of wild relatives of *Brassicaceae* showed resistance reactions in a very broad manifestation spectre ranging from highly susceptible (some accessions of *Crambe abyssinica*, *Camelina sativa*) about moderately susceptible (some accessions of *Capsella bursa-pastoris*, *Brassica souliei*, *Hesperis matronalis*) to heavily reduced susceptible (other accessions of *Capsella bursa-pastoris*, *Isatis glauca*, *Thlaspi arvense*) introductions. 16 accessions of wild relatives were immune or highly resistant, some of them only against clubroot (*Capsella bursa-pastoris*, *Thlaspi arvense*, *Lepidium latifolium*), while other accessions moreover showed resistance against black leaf spot (*Alternaria brassicicola*, *A. brassicae*) and blackleg (*Phoma lingam*). More of 10 races collected from several canopies in Germany, Switzerland, and Russia, respectively, were determined with the European Differential Set and propagated for further screenings in order to find more general resistances.

(BAZ-1125)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK, Gatersleben; Lötptien, GZG, Marne

138

## 2.5. Erarbeitung von Prüfverfahren zur Suche nach Resistenz gegen wichtige Schaderreger bei Petersilie (*Petroselinum crispum* Mill.)

### Elaboration of screening techniques for evaluation of resistance against important diseases in parsley (*Petroselinum crispum* Mill.)

Marthe, F.; Scholze, P.

*Erfassung wichtiger Pathogene unter natürlichen Bedingungen und vorbereitende Arbeiten zur Etablierung von Prüfmethoden auf Resistenz gegen bedeutende Schaderreger*

*Registration of important pathogens under natural conditions and preliminary activities for preparing a method to screen of resistance to important diseases.*

Für die Petersilie (*Petroselinum crispum* Mill.) stellt die *Septoria*-Blattfleckenkrankheit (*Septoria petroselini* Lib.) den bedeutendsten Schaderreger dar. Dieser samenbürtige Pilz kann bei großflächigem Anbau zum Zusammenbruch der Bestände führen. Daher besteht ein großes Interesse an Material mit Resistenz gegen *S. petroselini*, um die Qualität und den Ertrag zu sichern. Im Jahr 1995 wurde mit vorbereitenden Untersuchungen zu dieser Thematik begonnen. Bei *S. petroselini* handelt es sich um einen fakultativ saprophytisch lebenden Pilz, der auf Nährmedium kultiviert werden kann. Befallenes Pflanzenmaterial bildete den Ausgangspunkt für den Aufbau von Einsporlinien. Erste Untersuchungen zur Etablierung eines Prüfverfahrens zur Ermittlung von *Septoria*-Resistenz wurden begonnen.

In einem Vergleichsanbau von 127 Akzessionen von Petersilie wurden alle durch natürlichen Befall eintretenden Erkrankungen festgestellt. Als bedeutsam wurden dabei auch *Alternaria* sp., *Fusarium* sp. und *Erysiphe* sp. festgestellt.

Für den Sellerie (*Apium graveolens* L.) stellt die *Septoria*-Blattfleckenkrankheit (*Septoria apiicola* Speg.) gleichfalls den bedeutendsten Schaderreger dar. Für diese Art des Pilzes wurde ebenfalls begonnen, Einsporkulturen herzustellen.

#### Abstract:

*Septoria* is the most important disease for parsley (*Petroselinum crispum* Mill.) and celery (*Apium graveolens* L.). There are two different species of the fungus: *Septoria petroselini* (Lib.) on parsley and *Septoria apiicola* (Speg.) on celery. It was started to prepare a method to screen of resistance to *S. petroselini* in parsley.

139

### 3. Basismaterial Basic Material

#### 3.1. Untersuchungen zur Merkmalsausprägung Ölgehalt, Fenchongehalt und Wuchstyp bei Fenchel Studies on characters of fennel: oil and fenchone content, growth-type

Pank, F.; Neumann, M.

*Verbesserung der Voraussetzungen für eine erfolgreiche Fenchelzüchtung. Untersuchung der Ausprägung wichtiger Merkmale (z. B. Frühreife, Wuchshöhe, Gehalt der Früchte an ätherischem Öl und seinen Komponenten trans-Anethol, Fenchon und Estragol) in verschiedenen Fenchelsorten und -herkünften, Ermittlung der Korrelation dieser Merkmale. Kreuzungsexperimente zur Untersuchung der Übertragbarkeit der Merkmale.*

*Improvement of prerequisites for successful fennel breeding. Investigation on the expression of important characters (e. g. early maturity, growth height, essential oil content and its compounds trans-anethol, fenchone and estragol) in different fennel strains, correlation of these characters, experiments for deriving the ability of the characters to be transferred by crossing.*

Nach vorangegangener Evaluierung unterschiedlicher Fenchelherkünfte wurden Kreuzungspartner als Donoren wesentlicher Eigenschaften für ein Kreuzungsprogramm ausgewählt. Es erfolgte die Kreuzung der in der Tabelle 1 aufgeführten Fenchelformen mit nachfolgendem isoliertem Anbau der F<sub>1</sub>-Generation. 1995 wurden zahlreiche Einzelpflanzen der F<sub>2</sub>-Generation jeder Kreuzungsrichtung bewertet. In die Untersuchungen wurde die Bestimmung folgender Merkmale einbezogen: Tausendkorngewicht, Gehalt der Früchte an ätherischem Öl, Gehalt des ätherischen Öles an trans-Anethol, Fenchon und Estragol, Wuchshöhe, Frühreife und Ertrag. Nach Abschluß der Analysen und der statistischen Auswertung können Schlußfolgerungen über die Vererbung der Eigenschaften und Merkmalskopplungen abgeleitet werden.

#### Abstract:

Cross parents have been chosen as donors of important traits for a cross experiment. The F<sub>2</sub> of the different crosses has been evaluated in 1995 with respect to thou-

sand seed weight, essential oil content of fruits, oil composition: trans-anethol, fenchone, estragol, growth height, precocity and yield. Conclusions on heritability of the traits and trait linkage will be derived after chemical analysis and statistical evaluation.

(BAZ-1119)

In Zusammenarbeit mit: Krüger, BAZ, Inst. f. Qualitätsanalytik, Quedlinburg

140

#### 3.2. Untersuchungen zur Übertragung des Merkmals "hoher Ölgehalt" auf einjährige Kümmelformen Investigations on caraway to transfer the character "high oil content" to annual forms.

Pank, F.

*Einjähriger Kümmel bietet auf Grund der gegenüber zweijährigem Kümmel verkürzten Vegetationszeit ökonomische Vorteile. Der Ölgehalt ist jedoch unbefriedigend. Es sind die Voraussetzungen für die Übertragung des hohen Ölgehaltes des zweijährigen Kümmels auf einjährige Formen durch Kreuzungsexperimente zu untersuchen.*

*Caraway production costs can be lowered by replacing the biennial by the annual form, due to its shorter vegetation period. The essential oil content of the annual caraway is unsatisfying. The task of the research project is to clear the prerequisites for transfer of high essential oil content from biennial to annual caraway strains by crossing experiments.*

Es wurden reziproke Kreuzungen von 3 zweijährigen Kümmelsorten mit dem Zuchtstamm des einjährigen Kümmels 'CC-6-2267' hergestellt. Die Kombinationen wurden um eine Gruppe ergänzt, die der Prüfung des Einflusses der Rückkreuzung der F<sub>1</sub> aus zweijährigem und einjährigem Kümmel mit einjährigem Kümmel dient. Die der Kreuzung folgende Generation wurde zunächst in Isolationen angebaut. 1995 erfolgte die Bewertung der F<sub>3</sub> der reziproken Kreuzungen und der F<sub>2</sub> der Rückkreuzungsgruppe.

Die Untersuchungen erstreckten sich auf folgende Merkmale: Tausendkorngewicht, Gehalt der Früchte an ätherischem Öl, Gehalt des ätherischen Öles an Carvon und Limonen, Wuchshöhe, Frühreife und Ertrag. Die Kreuzungsnachkommenschaften zeigten deutliche Unter-

Tab. 1: Eigenschaften der für die Kreuzungsexperimente verwendeten Fenchelformen (*Foeniculum vulgare* Mill.)

| Fenchelform  | Größe der Früchte | Gehalt äth. Öl | Fenchongehalt | Wuchshöhe   |
|--------------|-------------------|----------------|---------------|-------------|
| 'Bulgarien'  | klein             | niedrig        | niedrig       | gering      |
| 'Berfena'    | mittel            | hoch           | hoch          | mittel      |
| 'Frankreich' | klein             | niedrig        | niedrig       | sehr gering |
| 'FV-8-545'   | groß              | hoch           | hoch          | mittel      |
| 'Stamm 1'    | klein             | hoch           | hoch          | mittel      |

Tab. 1: Phänotypische Variabilität wesentlicher Merkmale von einjährigem Kümmel  
(*Carum carvi* L. var. *annuum hort.*)

| Merkmal                  | Median | max  | min  | n    | s %  |
|--------------------------|--------|------|------|------|------|
| Tausendkorngewicht [g]   | 3,76   | 6,24 | 1,60 | 447  | 18,8 |
| äth. Öl [ml/100 g]       | 3,04   | 6,26 | 0,54 | 1600 | 24,7 |
|                          | 61,4   | 80,1 | 20,8 | 674  | 12,7 |
| Limonen [%]              | 38,6   | 79,2 | 19,9 | 674  | 19,4 |
| Wuchshöhe [cm]           | 72     | 98   | 35   | 489  | 11,5 |
| Ertrag [g/Einzelpflanze] | 13,6   | 45   | 0,6  | 431  | 49   |

schiede im Entwicklungsrhythmus. Schlußfolgerungen zur Übertragung der Merkmale können erst nach Abschluß der Analysen der 1995 gewonnenen Proben abgeleitet werden.

Aus der Untersuchung der phänotypischen Variabilität des bisher in die Arbeiten einbezogenen annualen Materials (Tab. 1) ist zu erkennen, daß Pflanzen in den Populationen vorhanden sind, die Öl- und Carvongehalt in gewünschter Höhe ausbilden können.

#### Abstract:

Biennial varieties of caraway were crossed and backcrossed with the annual line 'CC-6-2267'. Thousand seed weight, essential oil content of fruits, carvone and limonene content of the oil, growth height, precocity, and yield of the F<sub>2</sub> and F<sub>3</sub> generations were investigated in 1995. Conclusions on heritability of the traits and trait linkage will be derived after chemical analysis and statistical evaluation. The results of investigation of the hitherto available annual caraway populations show that there are single plants within the populations with the required expression of oil and carvone content (see table 1).

(BAZ-1120)

In Zusammenarbeit mit: Krüger, BAZ, Inst. f. Qualitätsanalytik, Quedlinburg; Griesbach, Kopahnke, Schliephake, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Geißler, Univ. Halle, AG Aschersleben

141

### 3.3. Effektivität unterschiedlicher Methoden der Selektion auf den Gammalinolensäuregehalt des Samenöls von *Oenothera lamarckiana* L. Efficacy of different methods of selection for the gamma linolenic acid content of *Oenothera lamarckiana* L. seed oil

Pank, F.

Verbesserung des Selektionserfolges bei der Selektion auf Gesamtfettgehalt und Fettsäurezusammensetzung der Samen von *Oenothera lamarckiana* L., Entwicklung von Analysemethoden zur Bestimmung dieser Qualitätsmerkmale an halben Samen (ein Keimblatt) und Regeneration der analysierten Pflanzen, Vergleich des Selekti-

onserfolges der herkömmlichen und der neu entwickelten Selektionsmethode.

Improvement of selection response for selection on the total fat content and the fatty acid composition of seeds of *Oenothera lamarckiana* L., development of analytical methods to determine these quality characters on half seeds (one cotyledon) and following regeneration of analysed plants; comparison of the selection response of conventional and the new developed selection method.

Die Effektivität von zwei Methoden wird verglichen, bei denen die Selektion a) auf der Bewertung von einzelnen Samen und b) auf der Bewertung des gesamten Samenertrages von Einzelpflanzen beruht. Bei der neu entwickelten Halbkornselektionsmethode wird der  $\gamma$ -Linolensäuregehalt an einem der Keimblätter der angekeimten Samen noch vor der Chlorophyllbildung bestimmt. Der restliche Keimling wird zur Pflanze regeneriert. Für die Bestimmung des Fettsäuremusters in Mikromengen des Pflanzenmaterials (< 0,1 mg) wurde eine neuartige Direktumesterung mittels Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) adaptiert, die eine effektive und milde Umsetzung der Triglyceride zu analysierbaren Fettsäuremethylestern bei Raumtemperatur gewährleistet.

Die bei herkömmlichen Methoden auftretende Isomerisierung der mehrfach ungesättigten Fettsäuren wird bei dieser Methode weitgehend unterdrückt. Aus einer vorgegebenen Pflanzenzahl einer Population von *Oenothera lamarckiana* L. wurden nach der neuen und der konventionellen Methode die besten Pflanzen selektiert. Der bei beiden Methoden zu erzielende Selektionserfolg wird 1996 durch Vergleich der entstandenen Stämme ermittelt.

#### Abstract:

The efficacy of two selection methods is being compared: evaluation of a) single seeds, and b) the whole seed yield of a single plant. The newly developed half seed selection method uses a special procedure of  $\gamma$ -linolenic acid analysis from one of the two cotyledons of soaked seeds in the stage of starting germination; the residual part of the seedling is regenerated to an entire plant. Plants with the highest  $\gamma$ -linolenic acid content have been selected according to both methods from a population of *Oenothera lamarckiana* L. The selection response will be estimated by comparing the progenies in 1996.

(BAZ-1127)

In Zusammenarbeit mit: Trensche, FH Anhalt, Bernburg

142

## Institut für Qualitätsanalytik Institute for Quality Analysis Quedlinburg

Das Institut für Qualitätsanalytik erforscht die qualitätsbestimmenden Merkmale sowohl in Kultur- als auch in Wildpflanzenarten und entwickelt auf der Basis der daraus gewonnenen Erkenntnisse spezielle Analysemethoden, die sowohl in der Züchtungsforschung als auch in der angewandten Züchtung die Selektion erwünschter Genotypen unterstützen. Darüber hinaus werden in Ergänzung der analytischen und sensorischen Untersuchungen Methoden zur Bewertung der technologischen Qualität (zum Beispiel Textur, industrielle Verarbeitbarkeit, Nachernteprozesse) erarbeitet und bei dem zu charakterisierenden Pflanzenmaterial angewandt. Im Rahmen der Forschungsprojekte werden neben Gemüse-, Obst- sowie Medizinal- und Gewürzpflanzen auch neuartige, industriell verwertbare Nutzpflanzen bearbeitet. Zur Erfassung der qualitätsbestimmenden Parameter werden außer Kohlenhydraten und Lipiden insbesondere Minorcomponenten wie Fruchtsäuren, Aminosäuren, Vitamine, Riech- und Aromastoffe sowie weitere, dem pflanzlichen Sekundärstoffwechsel zuzurechnende Verbindungen bestimmt.

The institute for quality analysis investigates the quality determining parameters at cultivated as well as wild plants. Based on the received knowledge it develops special analytical methods to support the breeding research as well as the applied breeding by selecting the desired genotypes. Furthermore, besides analytical and sensory tests, methods which characterize the technological quality (e. g. texture, industrial processability, post-harvest processes) are elaborated and applied at that plant material to be tested. Research projects occupy not only with vegetables, fruits, medicinal and spice plants but also with new cultured plants suitable for industrial utilization. In order to register the quality determining parameters, besides hydrocarbons and lipids, especially minor compounds as for instance fruit acids, amino acids, vitamins, perfume and flavouring substances as well as other components resulting from the secondary plant metabolism are analyzed.

### 1. Ernährungswissenschaftlich bedeutsame Inhaltsstoffe und technologische Qualität Nutritionally important constituents and technological quality

#### 1.1 Einsatz der Farbmessung sowie der Remissionsmessung im sichtbaren und NIR-Bereich zur direkten und indirekten Qualitätsbestimmung an Möhre, Erdbeere und Fenchel Measurement of colour and NIR-remission for the direct and indirect quality determination of carrot, strawberry and fennel Quilitzsch, R.

*Erarbeitung zerstörungsfreier Bestimmungsmethoden für die innere und äußere Qualität. Objektivierung der Bestimmung der äußeren Qualität. Messung von Farbkoordinaten (CIE-Normfarbtafel). Anwendung von NIR-Remissionsspektroskopie.*

*Elaboration of non-destructive estimation methods of internal and external quality. Qualification of estimation of external quality. Measurement of colour coordinates (CIE-colour plane). Use of NIR-remission spectroscopy.*

Die früher an Möhren begonnenen Arbeiten wurden an einem Zuchtmaterial-Sortiment sowie an verschiedenen Sorten bezüglich der Farbbestimmung entsprechend dem CIE- und CIELAB-System systematisch weitergeführt. Die zur Korrelation mit den Farbwerten benötigten Gesamt-Carotinoidgehaltsbestimmungen wurden jeweils von einzelnen Möhren auf chromatographischem Wege ermittelt. Bei den auf diese Weise erhaltenen Gesamt-Carotinoidgehalten wird eine gute Korrelation zu den Farbkoordinaten  $L^*$  und  $a^*$  festgestellt. Innerhalb einer Sorte wird bezüglich der Farbkoordinate  $a^*$  (Rotanteil) ein Korrelationskoeffizient von 0,9 berechnet. Bei der Berücksichtigung von Meßwerten mehrerer Sorten liegt der Korrelationskoeffizient bei 0,75; es wird allerdings erwartet, daß durch eine standardisierte Aufnahmetechnik die Korrelation auch hierbei noch verbessert werden kann.

An Erdbeeren wurden in Fortsetzung der begonnenen Arbeiten zur Markierung des Reifezustandes Farbmessungen an 14 Sorten durchgeführt. Bei 3 dieser Sorten wurde der Reifeverlauf farbmetrisch erfaßt und mit den vorliegenden Aromaprofilen sowie Zuckergehalten korreliert (s. BAZ-1211).

Die Weiterführung der an Sortimenten von Kümmel und Fenchel begonnenen farbmetrischen Messungen lieferte über die Korrelation zum Trockenmassegehalt eine

Möglichkeit zur Erfassung des Reifezustandes. Basierend auf diesem Datenmaterial erscheint eine bessere Vorhersage des optimalen Erntezeitpunktes bei Kümmel- und Fenchelfrüchten gegeben.

#### Abstract:

The total carotenoid content of different carrot cultivars/varieties has been determined using a chromatographic method. The results obtained show good correlation to measurements of colour value ( $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$ ). At one variety the correlation coefficient between  $a^*$  and total carotenoid content is 0.9. Recognizing several sorts the correlation coefficient decreases to 0.75. Colour measurements performed at strawberries show good correlation to the ripening process. It also seems to be possible, to predict the optimal harvest time of caraway and fennel fruits by  $L^*$ ,  $a^*$ ,  $b^*$  colour determination.

(BAZ-1201)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Pank, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

143

### 1.2 Modifizierung von Methoden zur Zucker- und Carotinbestimmung an Möhren

#### Modification of methods for the determination of sugars and carotene in carrots

Höfer, R.

*Anpassung und Modifizierung von Methoden zur Quantifizierung von Qualitätsmerkmalen der Möhre. Die verschiedenen Zucker und Carotinoide werden in erster Linie mit chromatographischen Methoden bestimmt. Entwicklung von Methoden zur Aufarbeitung des Probenmaterials vor der Bestimmung der Inhaltsstoffe. Vergleich der Ausprägung der Merkmale in verschiedenen Sorten und Linien.*

*Adaptation and modification of methods for quantification of quality parameters in carrots. The different sugars and carotenoids are primarily determined by chromatographic methods. Development of methods for preparation of plant material samples before analysis of components. Comparison of the expression of the characteristics in various varieties and strains.*

Es wurden zahlreiche Möhrensorten und -linien mittels einer dünn-schichtchromatographischen Methode (HPTLC) hinsichtlich der relevanten Mono- und Disaccharidanteile (Saccharose, Glucose und Fructose) untersucht. Außer der Bestimmung der Zuckergehalte wurden eine Reihe weiterer qualitätsbestimmender Parameter, wie Gesamt-Carotinoidgehalt, Trockensubstanzgehalt, Refraktometerwert und Farbe, ermittelt. Bestätigt wurde erneut die gute Übereinstimmung zwischen chromatographisch bestimmten Gesamt-Carotinoidgehalten und zerstörungsfreien Farbmessungen. Weiterhin konnten die analytisch ermittelten Parameter durch sensorische Bewertungen in Form von Beliebtheitstests mit 25 ... 30 Probanden bestätigt werden.

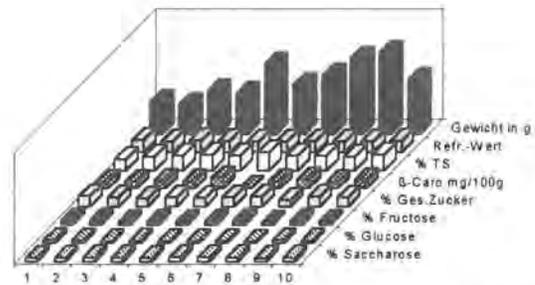


Abb. 1: Inhaltsstoffe in 10 Einzelmöhren einer Sorte

#### Abstract:

The content of relevant mono- and disaccharides (saccharose, glucose, fructose) in several carrot genotypes/varieties has been determined. Furthermore other quality parameters as for instance total carotenoid content, dry matter content, brix value and colour have been analyzed. The individual analytical results have been confirmed by sensory tests.

(BAZ-1202)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

144

### 1.3 Analysenmethoden zur Bestimmung des Gesamtgehaltes sowie der Einzelkomponenten an Glucosinolaten im Samenkorn und in der Grünmasse bei Brassicaceae-Art- und Gattungsbastarden (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*)

**Analytical methods for the determination of the total content and single components of glucosinolates in the seeds or in the green mass of interspecific and intergeneric hybrids in *Brassicaceae* (*Brassica*, *Raphanus*, and *Sinapis*)**

Schütze, W.

*Methodische Arbeiten zur Senkung des Gehaltes an Glucosinolaten bei Brassicaceae und Selektion von Ausgangsmaterial für die Züchtung mit niedrigem Gehalt an Glucosinolaten. Arbeiten zur Selektion von Formen des Weißen Senfes mit einem hohen Gehalt an Sinalbin. Bestimmung der Inhaltsstoffe mit Hilfe chromatographischer Verfahren (HPTLC, HPLC).*

*Methodical works for a reduction of glucosinolate content in Brassicaceae and selection of basic material for the breeding with low content of glucosinolates. Selection of forms from "white mustard" with high content of sinalbin. Detection of those substances with chromatographic methods (HPTLC, HPLC).*

Die Arbeiten zur Bestimmung von Glucosinolaten in *Brassica* wurden kontinuierlich weitergeführt. In die Untersuchungen wurden zunehmend Formen aus Art- und Gattungskreuzungen von *Brassicaceae* einbezogen. Diese Bastarde (u. a. Gemüserapse, *Raphanobrassica*), unter denen sich empfehlenswerte, neue Gemüseformen

befinden, die sich durch gute Geschmackseigenschaften, Raschwüchsigkeit und zarte Blattkonsistenz auszeichnen, weisen ein sehr unterschiedliches Spektrum an Glucosinolaten (GSL) auf. Aufgrund der in den letzten Jahren bezüglich der physiologischen Wirkung der GSL gewonnenen Erkenntnisse steht im Vordergrund des Screenings, insbesondere solche Gemüsebastarde zu selektieren, die gezielte Veränderungen des GSL-Musters zugunsten ernährungsphysiologisch wertvoller Komponenten, wie zum Beispiel des Glucobrassicins (Indol-3-methylglucosinolat) aufweisen. Gleichzeitig kommt es darauf an, Formen mit hohem Sinigrin- und/oder Progoitringehalten [Allylglucosinolat (SIN), 2-Hydroxy-3-butenylglucosinolat (PRO)] aus dem vorhandenen Bastardmaterial möglichst auszuschließen, wenn es um die Sicherstellung einer gesunden Ernährung geht (Abb. 1). Die zunehmende Einbeziehung von Wildformen der Art *Brassica oleracea* unterschiedlicher Provenienzen von den Kanarischen Inseln eröffnet weitere Möglichkeiten, Material mit hohen Indolglucosinolatgehalten, wie zum Beispiel Glucobrassicin und Neoglucobrassicin, einzukreuzen. Eine der Hauptzielstellungen der derzeit laufenden Arbeiten ist es dabei gleichzeitig, Formen mit höheren Alkyl- und Alkenylglucosinolatgehalten auszuschließen.

Weitere Zielstellungen sind:

- Testung und Selektion von *Brassica*-Ausgangsmaterial durch Kombination von Sensorik und Glucosinolatanalytik im Hinblick auf guten Geschmack von Kohlgemüse,
- Untersuchungen zur Bedeutung der Glucosinolate bei *Brassica*-Ausgangsmaterial für das Auftreten von Resistenz gegen Schaderreger,
- Identifizierung der im Bastardmaterial teilweise in höheren Konzentrationen auftretenden Glucosinolate mittels "off-line"-Kopplung von HPLC und Massenspektrometrie.

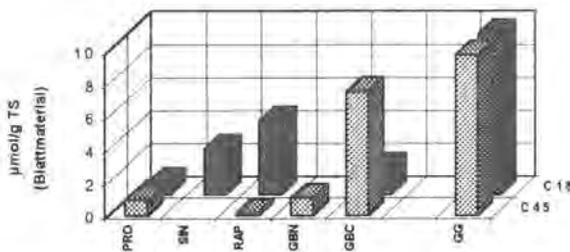


Abb. 1: Vergleich des Gehaltes ausgewählter Glucosinolate und des Gesamtgehaltes (GG) zwischen einem Chinakohl-Kohlrabi-Bastard (C45) und einem Futterrettich-Grünkohl-Bastard (C18) (PRO-Progoitrin; SIN-Sinigrin; RAP-Raphanin; GBN-Glucobrassicin; GBC-Glucobrassicin)

Abstract:

New forms obtained by crossing different species and genera of Brassicaceae have been investigated with re-

gard to their glucosinolate (GSL) composition. In some cases bastards (e. g. vegetable rape, *Raphanobrassica*) show a pleasing flavour, gentle leaf consistence and a very different composition of individual glucosinolates. The topic of the work is to select those forms with a low sinigrin (SIN) and/or progoitrin (PRO) content. Furthermore forms containing as much as possible indole glucosinolates are recognized for their positive nutritional properties. Glucosinolates which are present in higher amounts will be identified by off-line coupled HPLC-mass spectrometry measurements.

(BAZ-1203)

In Zusammenarbeit mit: Clauß, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Krämer, R., BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

145

## 2. Fettsäuren Fatty acids

### 2.1 Analysenverfahren zur Bestimmung des Gesamtfettgehaltes und der Fettsäurezusammensetzung an *Brassicaceae*-Art- und Gattungsbastarden

Analytical methods for the determination of the total fat content and the fatty acid composition of interspecific and intergeneric *Brassicaceae* hybrids

Ulrich, D.

Entwicklung von effektiven, züchtungsspezifischen Analysenverfahren zur Bestimmung des Ölgehaltes und des Fettsäureprofils bzw. einzelner Komponenten unter Erhalt der Lebensfähigkeit des Pflanzenmaterials.

Development of effective, non-destructive analytical methods for the determination of the total fat content and fatty acid composition or single components in the breeding process.

Die für *Brassica* adaptierte Methode zur Bestimmung des Fettsäuremusters, insbesondere in fetten Ölen mit hohem Anteil mehrfach ungesättigter Fettsäuren, unter Verwendung von Trimethylsulfoniumhydroxid (TMSH) wurde in der Routineanalytik zur Untersuchung von Basismaterial in breitem Umfang angewendet. Die Methode zeichnet sich durch ihre hohe Effektivität aus und ist deshalb für automatisierte Serienanalysen besonders geeignet. Im zurückliegenden Berichtszeitraum wurden Populationen von *Brassica* (Art- und Gattungsbastarde), Lein und Nachtkerze mit Hilfe der TMSH-Halbkornmethode untersucht.

Abstract:

The fatty acid pattern of interspecific and intergeneric *Brassicaceae* hybrids, *Linum* and *Oenothera* sp. has been determined at individual basic material by a sample preparation technique using trimethylsulfoniumhydroxide as

reagent. The method can be applied at the fatty acid analysis, performed by the half-corn technique.

(BAZ-1204)

In Zusammenarbeit mit: Clauß, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Pank, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

146

### 3. Sekundäre Inhaltsstoffe Secondary compounds

#### 3.1 Variabilität und Dynamik der Akkumulation von ätherischem Öl und Carvon in Früchten des Einjährigen Kümmels in Abhängigkeit vom Reifegrad

**Variability and dynamics of essential oil and carvone accumulation in fruits of annual caraway in dependence on the maturity**

Pank, F., Quilitzsch, R.

*Einjähriger Kümmel weist eine geringere Qualität als zweijähriger Kümmel auf. Zur Verbesserung des Selektionserfolges bei der notwendigen züchterischen Bearbeitung werden auf der Grundlage der Untersuchung der ontogenetischen und morphogenetischen Variabilität qualitätsbestimmender Merkmale Schlußfolgerungen zur repräsentativen Probenahme abgeleitet.*

*Annual caraway has a lower quality as biennial one. Conclusions for representative sampling are derived from investigation of ontogenetic and morphogenetic variability of important quality traits as a prerequisite for better selection response for the necessary improvement by breeding.*

In die Untersuchungen wurden folgende Merkmale einbezogen: Gehalt der Früchte an ätherischem Öl, Trockensubstanzgehalt, Gehalt des ätherischen Öles an Carvon, Limonen, Farbkoordinaten (CIELAB-System), Tausendkorngewicht und Kornsitz der Früchte.

Die Untersuchung der Veränderung dieser Merkmale im Reifeprozess erstreckte sich über die Phasen der Grünreife, Milchwachsreife, Braunreife und Totreife mit entsprechendem mittlerem Trockensubstanzgehalt der Früchte der Sekundärdolden von 23, 33, 55 und 74 %. Mit zunehmender Reife verminderten sich die Werte folgender Merkmale deutlich: Gehalt der Früchte an ätherischem Öl, Kornsitz, Farbkoordinaten L\* und b\*. Die Farbkoordinate a\* stand in sehr enger positiver Korrelation zum Trockensubstanzgehalt der Früchte. Es waren keine erheblichen Veränderungen des Carvon- und Limonengehaltes des ätherischen Öls im Verlauf der untersuchten Reifephase zu verzeichnen.

Die wiederholte Untersuchung des Ölgehaltes der Früchte und des Carvongehaltes des Öls im Stadium der Milchwachsreife bzw. der Braunreife an einzelnen Primärdolden verschiedener Einzelpflanzen ergab eine enge Korrelation der Werte in beiden Reifestadien. Aufgrund

der beobachteten Abhängigkeit ist daher eine Selektion bereits im Stadium der Milchwachsreife möglich. Durch frühe Selektion eröffnen sich Möglichkeiten zur Verbesserung des Selektionsgewinnes.

Die morphogenetische Variabilität wurde durch Untersuchung der Merkmale an braunreifen Früchten der Primär-, Sekundär- und Tertiärdolden bestimmt. Die visuelle Einschätzung des Reifestadiums der Braunreife war mit unterschiedlichen Trockensubstanzgehalten der Früchte verbunden: Primär-, Sekundär- und Tertiärdolden wiesen mittlere Trockensubstanzwerte von 64, 72 und 79 % auf. Mit steigendem Verzweigungsgrad nahm das Tausendkorngewicht der Früchte ab. Während der Gehalt der Früchte an ätherischem Öl und die Farbkoordinaten L\* und b\* bei Primär- und Sekundärdolden in gleicher Höhe lagen, waren bei den Tertiärdolden etwas geringere Werte zu verzeichnen. Unter Berücksichtigung der Veränderung dieser Merkmale bei fortschreitender Reife und des höheren Trockensubstanzgehaltes der Tertiärdolden zum Zeitpunkt der Probenahme kann davon ausgegangen werden, daß Ölgehalt und Farbkoordinaten L\* und b\* nur unerhebliche Unterschiede in Abhängigkeit vom Verzweigungsgrad aufweisen, wenn die Proben bei einheitlichem Trockensubstanzgehalt der Früchte genommen werden. Auch bei den Merkmalen Kornsitz und Farbkoordinate a\* der Früchte und beim Carvon- und Limonengehalt des ätherischen Öls waren keine wesentlichen Abweichungen zu verzeichnen.

Die Nutzung der vorteilhaften Selektion bereits im frühen Reifestadium setzt die Standardisierung der Bewertungsergebnisse auf einen einheitlichen Reifegrad voraus, da sich mit Ausnahme von Carvon- und Limonengehalt des Öles Farbe, Ölgehalt und Kornsitz der Früchte im Reifeverlauf erheblich verändern. Die enge Korrelation der Farbkoordinate a\* mit dem Trockensubstanzgehalt der Früchte kann zur objektiven Einschätzung des Reifestadiums mit Hilfe der verfügbaren Handgeräte für die Farbmessung vor Ort im Zuchtgarten genutzt werden. Der Einfluß des Verzweigungsgrades der Dolden spielt bei der Probenahme mit Ausnahme der Bewertung des Tausendkorngewichtes eine untergeordnete Rolle.

Abstract:

The investigation of ontogenetic and morphogenetic variability covered the following traits: Essential oil content, dry matter content, colour coordinates (CIELAB system), thousand seed weight, shattering of the fruits, content of carvone and limonene in the essential oil. The traits were evaluated on secondary umbels in the following ripeness stages: 'green', 'milky - wax', 'brown' and 'dead' with an average dry matter content of 23, 33, 55, and 74 %, respectively. The values of essential oil content, shattering, colour coordinates L\* and b\* of the fruits decreased in course of maturity progress. No influence could be stated on carvone and limonene content of the oil. The colour coordinate a\* had a strong positive correlation to the dry matter content of the fruits.

The repeated determination of the essential oil content of the fruits and the carvone content of the essential oil

from the same primary umbels of different single plants revealed a strong correlation of the values in the milky-wax and the brown stages.

No significant differences of the traits have been found in dependence of the umbel branching level except the thousand seed weight that decreases in umbels of higher branching level.

(BAZ-1205)

147

### 3.2 Bestimmung des Öl- und Fenchongehaltes von Fenchelfrüchten unter Berücksichtigung des Einflusses der Reife und des Verzweigungsgrades der Dolden

**Determination of the essential oil and fenchone content in fennel fruits in respect of the influence of the maturity stage and the level of umbel branching**

Pank, F.; Kecke, S., Quilitzsch, R.

*Die Arbeiten dienen der Verbesserung der Grundlagen einer repräsentativen Probenahme durch Untersuchung von Veränderungen wesentlicher qualitätsbestimmender Merkmale im Verlauf der Reife und in Abhängigkeit vom Verzweigungsgrad der Dolden.*

*The objective of the project is to derive fundamentals for representative sampling for selection on important quality traits by investigation of their ontogenetic and morphogenetic variability.*

Folgende Merkmale wurden bei den Untersuchungen berücksichtigt: Gehalt der Früchte an ätherischem Öl und Trockensubstanz zum Zeitpunkt der Ernte, Gehalt des ätherischen Öles an trans-Anethol, Fenchon und Estragol, Farbkoordinaten (CIELAB-System), Tausendkorngewicht und Kornsitze der Früchte.

Zur Ermittlung der Veränderungen im Reifeprozess wurden die Früchte von Sekundärdolden in den Stadien 'Grünreife', 'Milchwachsreife' und 'Braunreife' (entsprechend ca. 22, 26 und 82 % Trockensubstanzgehalt) bewertet. Deutliche Unterschiede der untersuchten Merkmale in Abhängigkeit vom Reifegrad konnten bei den Farbkoordinaten a\* und b\* nachgewiesen werden. Aufgrund der engen Korrelation der Farbkoordinate a\* mit dem Trockensubstanzgehalt der Früchte kann die Farbmessung zur vereinfachten objektiven Bestimmung des Reifegrades genutzt werden.

Durch Untersuchung der Merkmale an braunreifen Früchten der Primär-, Sekundär- und Tertiärdolden konnten Rückschlüsse auf den Einfluß des Verzweigungsgrades gezogen werden. Tausendkorngewicht und Kornsitze verringerten sich merklich von der Primär- zur Sekundär- und Tertiärdolde. Der Gehalt an ätherischem Öl und seiner Komponenten sowie die Farbkoordinaten der Früchte blieben weitgehend unbeeinflusst.

Es kann geschlußfolgert werden, daß mit Ausnahme zur Ermittlung von Farbkoordinaten die Probenahme zur Bestimmung des Kornsitzes, des Ölgehaltes und der untersuchten Komponenten in keinem streng definierten Abschnitt der untersuchten Reifephase erfolgen muß. Die

Wahl von Dolden des 1. bis 3. Verzweigungsgrades hat, mit Ausnahme von Tausendkorngewicht und Kornsitze, keinen erheblichen Einfluß auf die Bewertung des Ölgehaltes, des Gehaltes an trans-Anethol, Fenchon und Estragol und auf die Farbkoordinate der Einzelpflanzen, wenn die Probe in der untersuchten Reifephase genommen wird.

Abstract:

The investigation of ontogenetic (dry matter content of the fruits in the range of 22 to 82 % of secondary umbels) and morphogenetic (primary, secondary and tertiary umbels) variability covered the following traits: Essential oil content, dry matter content, colour coordinates (CIELAB system), thousand seed weight, shattering of the fruits, and trans - anethole, fenchone and estragole content of the essential oil. Significant differences of the investigated traits in dependence on the maturity stage have been emerged only in the case of colour measurements. The colour coordinate a\* has a strong positive correlation to the dry matter content of the fruits. No significant differences have been observed in dependence of the branching level of the umbels except thousand seed weight (decreased in umbels with higher branching level) and shattering (increased in umbels with higher branching level).

(BAZ-1206)

148

### 3.3 Entwicklung von Mikromethoden zur Isolierung und Quantifizierung ätherischer Öle von Kümmel, Fenchel und Pfefferminze

**Development of micro-methods for isolation and quantification of essential oils of caraway, fennel, and peppermint**

Krüger, H.

*Entwicklung von Methoden zur Charakterisierung ätherischer Öle aus kleinsten Pflanzenmengen. Abtrennung ätherischer Öle mittels Festphasenextraktion mit nachfolgender chromatographischer Charakterisierung.*

*Development of micro-methods for characterization of essential oils of small amounts of plant material. Separation of essential oils by solid phase extraction and following GLC-analysis of the eluate.*

Die Arbeiten zu Extraktions- und Mikrodestillations-techniken an Kümmel, Fenchel, Dill, Koriander, Pfefferminze, Majoran, Basilikum, Thymian, Bohnenkraut und Kamille wurden fortgesetzt. Dabei stand die qualitative und quantitative Charakterisierung der ätherischen Öle einzelner Pflanzenbestandteile im Mittelpunkt des Interesses. Die selbst entwickelte Mikrodestillation in Festphasenkartuschen ist gut geeignet, auch dann weitgehend richtige Aussagen zur Zusammensetzung ätherischer Öle zu machen, wenn die Destillation, wie im Falle von Majoran und Kamille, unter starker Bildung von Artefakten verläuft. Extrakte ätherischer Öldrogen liefern hingegen in den Fällen bessere Ergebnisse, wenn eine Abstufung in den Ölgehalten vorzunehmen ist.

Auch wenn die Zusammensetzung der Extrakte deutlich von denen der Wasserdampfdestillate abweicht, werden noch verlässliche Resultate erzielt. Im Falle der von uns untersuchten Umbelliferensortimente konnte eine strenge Korrelation zwischen den destillativ ermittelten Ölgehalten und den aus Extrakten erhaltenen Terpenfraktionen registriert werden (Abb. 1).

Die methodischen Arbeiten bei Dill und Koriander wurden an den Sortimenten der Genbank Gatersleben vorgenommen. Dabei wurden bisher unbekannte Chemorassen entdeckt, die in beiden Fällen Schlußfolgerungen auf die Entstehungsgebiete bzw. Mannigfaltigkeitszentren zulassen.

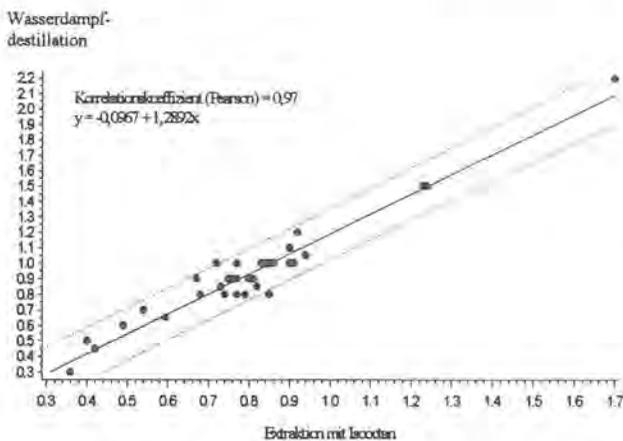


Abb. 1: Korrelation der mittels Wasserdampfdestillation und Isooctanextraktion ermittelten Gehalte an ätherischen Ölen (in %) in Koriandersamen

#### Abstract:

Analytical micro-scale measurements have been carried out at plant material of the following species: caraway, fennel, dill, coriander, peppermint, majoran, basil, thyme, savory, and camomile. In this context micro-steam distillation and extraction have been applied as clean-up techniques. In general, micro-distillation represents the actual essential oil composition in a better way. In order to determine the essential oil content in the drug, the quantification can be performed on the basis of total terpenoids detected in the extract.

In cases of dill and coriander new chemotypes have been found in the assortments of the Gatersleben gene bank.

(BAZ-1207)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, IPK, Gatersleben; Pank, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg; Wonneberger, FH Osnabrück, Fachbereich Gartenbau

149

### 3.4 Chromatographische Methoden (HPTLC) zur Selektion morphinarmer bzw. morphinfreier Formen von *Papaver somniferum* L. mit Eignung als Backmohn

Thin layer chromatographic methods (HPTLC) for the selection of morphine-poor or morphine-free forms of *Papaver somniferum* L. suitable as baking poppy

Schütze, W.

Entwicklung einer DC-Methode zum sicheren Nachweis des Morphingehaltes in Kapseln von *Papaver somniferum* unter 0,01 %. Quantifizierung von Morphin mit Hilfe der HPTLC.

Development of a thin layer method for the sure evidence of morphine in the capsules of *Papaver somniferum* with a content below 0.01 %. Quantification of morphine with HPTLC.

Die Arbeiten zur Selektion morphinarmer/-freier Formen von *Papaver somniferum* L. wurden kontinuierlich fortgeführt.

Neben der Sorte 'Soma' konnten in den Sorten 'Riesenmohn' (RM), 'Quedlinburger' (QLB) und in der polnischen Sorte 'Przenko' (PZ) Einzelpflanzen mit Morphingehalten unter 100 µg/g getrocknetem Kapselmehl (0,01%) selektiert werden.

Nachkommenschaften dieser Pflanzen zeigten eine Aufspaltung, wobei in fünf der untersuchten neun Einzelpflanzennachkommenschaften (EPN) wiederum morphinarmer Pflanzen auftraten (Tab. 1).

Tab. 1: Morphingehalt in Einzelpflanzennachkommenschaften selektierter morphinarmer Mohnpflanzen

| Selektierte Pflanzen | Pflanzen (µg/g) | n  | Einzelpflanzennachkommenschaft (1) |       |          |      |       | Anzahl ≤ 0,01% |
|----------------------|-----------------|----|------------------------------------|-------|----------|------|-------|----------------|
|                      |                 |    | Min µg/g                           | %     | Max µg/g | %    | s%    |                |
| RM 1612              | 240             | 25 | 32                                 | 0,003 | 5861     | 0,58 | 66,2  | 1              |
| RM 1614              | 131             | 9  | 58                                 | 0,006 | 10000    | 1,00 | 82,2  | 1              |
| RM 1701              | < 10            | 19 | 123                                | 0,013 | 6608     | 0,66 | 72,2  | -              |
| QLB 1903             | < 10            | 9  | 3271                               | 0,327 | 10000    | 1,00 | 32,6  | -              |
| PZ 3004              | < 10            | 8  | 101                                | 0,010 | 750      | 0,07 | 56,4  | -              |
| PZ 3011              | 106             | 7  | 71                                 | 0,007 | 209      | 0,02 | 36,9  | 2              |
| PZ 3014              | 74              | 8  | 10                                 | 0,001 | 289      | 0,03 | 188,6 | 7              |
| PZ 3015              | < 10            | 7  | 161                                | 0,016 | 570      | 0,06 | 55,7  | -              |
| PZ 2/95              | 101             | 58 | 32                                 | 0,003 | 244      | 0,02 | 42,6  | 23             |

Besonders interessant ist die Sorte 'Przenko', die einen insgesamt niedrigen Morphingehalt aufweist. Die analysierten Umfänge der EPN erlauben z. Z. noch keine gesicherte Aussage zur Vererbung, lassen aber den Schluß zu, daß das Merkmal „Morphinarmut“ genetisch anders bedingt sein muß, als dies bei der Sorte 'Soma' der Fall ist.

In Weiterführung der Arbeiten sollen die Nachkommenschaften der morphinarmer Einzelpflanzen der Inzuchtgenerationen angebaut und analysiert werden, um Aufschluß über die Genetik des Merkmals „Morphinarmut“

in den selektierten Linien zu erhalten. Die morphinaren Genotypen sollen dann dem Züchter als definiertes Basismaterial bereitgestellt werden können.

#### Abstract:

It has been succeeded to select some poppy varieties with a morphine content in the capsule below 0.01 % ('Soma', 'Riesenmohn', 'Quedlinburger'). Between the ten investigated poppy varieties, the polish variety 'Przenko' shows the lowest morphine content. Only in 5 of 9 descendants the low morphine content has been transmitted. More research work is necessary to understand the genetic transmission of the character „low morphine content“. (BAZ-1208)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, Straka, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg  
150

## 4. Geschmacksbildende Inhaltsstoffe Flavouring compounds

### 4.1 Entwicklung sensorischer und instrumenteller Analysenmethoden zur Beurteilung geschmacksbildender Merkmale von Zuchtmaterial der Erdbeere

#### Development of sensory and instrumental analytical methods for the evaluation of flavour-determining features

Hoberg, E.; Ulrich, D.; Kecke, S.

Die Züchtung von Erdbeeren ist auf die Schaffung von resistentem Basismaterial mit guter sensorischer Qualität ausgerichtet. Es wird ein umfangreiches Erdbeersortiment mit klassischen analytischen Methoden sowie mittels HPLC, GC-MS und GC-Sniffing untersucht. Neben Oxal-, Wein-, Äpfel-, Ascorbin-, Zitronen- und Fumarsäure werden Saccharose, Glucose und Fructose bestimmt. Es werden insgesamt 23 flüchtige Komponenten identifiziert. Darüber hinaus werden die verschiedenen Geschmackskomponenten mit sensorischen Methoden bewertet. Mit Hilfe statistischer Methoden werden Schlußfolgerungen für die Züchtungsarbeit abgeleitet.

The predominant aim at strawberry breeding is to establish resistant basis material representing good sensory features. An extensive assortment of strawberries is investigated by classical analytical methods and HPLC measurements. The most important fruit acids as well as the sugars sucrose, fructose, and glucose are determined. About 23 volatile components differing in quality and quantity among the varieties are identified by GC. Taste and flavour components are determined by sensory methods. Relationships between single components or groups of components are discussed on the basis of statistical interpretation.

Die methodischen Untersuchungen zur sensorischen Bewertung von Erdbeerezüchtmaterial wurden fortgesetzt mit dem Ergebnis, daß ein synthetischer Standard für die

„Normierung“ der Merkmale 'Süße' und 'Säure' getestet und eingeführt wurde. Damit ist es möglich, den Prüfern über den gesamten Erntezeitraum eine Vergleichsprobe anzubieten. Die lineare Skala für die quantitative Merkmalsbewertung zur Durchführung der Profilanalysen hat sich bewährt. Im Zuchtmaterial oder in Wildformen treten über die erfaßten Merkmale hinaus weitere Geschmackskomponenten auf. Diese müssen in den zu betrachtenden Genotypen zusätzlich bestimmt werden.

Die genetische Vielfalt in dem mehrjährig untersuchten Sortiment spiegelt sich nicht zuletzt in einer hohen Variabilität der geschmacksgebenden Inhaltsstoffe wider. Anhand von 14 Sorten, die 1994 und 1995 im Quedlinburger Versuchsgarten angebaut worden waren, wurde für die instrumentell ermittelten Analyseergebnisse die Wahrscheinlichkeit für den Einfluß von Sorte und Jahr sowie die Wechselwirkung beider Faktoren berechnet. Mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von  $\alpha=5\%$  lassen sich Sortenunterschiede für die meisten Merkmale sichern; ausgenommen sind davon der Gehalt an löslichen Feststoffen (% TSS), der aus dem Refraktometerwert ermittelt wurde, sowie der Oxalsäuregehalt. Der Jahreseinfluß ließ sich nicht sichern bezüglich der titrierbaren Säure, dem Citronensäuregehalt und dem sensorisch bewerteten Zucker/Säure-Verhältnis. Gesicherte Wechselwirkungen zwischen Sorte und Erntejahr konnten für die Merkmale 'Oxal-', 'Wein-', 'Äpfel-' und 'Fumarsäure' nachgewiesen werden (Tab. 2).

Aus der Literatur sind auch Ergebnisse bekannt, aus denen für andere als die o. g. Größen ein signifikanter Einfluß errechnet werden konnte. Insofern sind die unter konkreten Umweltbedingungen mit eingeschränkten Sortimenten ermittelten signifikanten Einflußgrößen auch nur für diese Bedingungen nutzbar.

Tab. 2: Bedeutung des Einflusses von Sorte, Jahr und Wechselwirkung (Sorte x Jahr) auf ausgewählte Qualitätsmerkmale bei Erdbeeren ( $\alpha = 5\%$ )

| Merkmal                     | Sorte<br>FG = 13 | Jahr<br>FG = 1 | Wechselwirkung (SxJ)<br>FG = 13 |
|-----------------------------|------------------|----------------|---------------------------------|
| % Gesamte lösl. Feststoffe  | o                | +              | o                               |
| g Saccharose/100 g FM       | +                | +              | o                               |
| g Glukose/100 g FM          | +                | +              | o                               |
| g Fruktose/100 g FM         | +                | +              | o                               |
| g Gesamtzucker/100 g FM     | +                | +              | o                               |
| g Ges. titr. Säure/100 g FM | +                | o              | o                               |
| Verh. Zucker/Säure          | +                | +              | o                               |
| mg Oxalsäure./100g FM       | o                | +              | +                               |
| mg Weinsäure./100 g FM      | +                | +              | +                               |
| mg Äpfelsäure/100 g FM      | +                | +              | +                               |
| mg Ascorbinsäure./100 g FM  | +                | +              | o                               |
| mg Citronensäure./100 g FM  | +                | o              | o                               |
| mg Fumarsäure./100 g FM     | +                | +              | +                               |
| Geschmack süß               | +                | +              | o                               |
| Geschmack sauer             | +                | +              | o                               |
| Süß-sauer-Verhältnis        | +                | o              | o                               |
| Aromatisch                  | +                | +              | o                               |

+ - signifikant o - nicht signifikant FG - Freiheitsgrad

Die flüchtigen Inhaltsstoffe der Erdbeeren wurden mit Hilfe der flüssig-flüssig-Extraktion unter Verwendung von Trichlorfluormethan als Extraktionslösemittel und der Mikro-Festphasenextraktion (SPME) untersucht. Die in den Vorjahren beobachteten Typen von Aromamustern, die bestimmten sensorischen Typen zuzuordnen sind, konnten im wesentlichen auch im 1995 geernteten Material nachgewiesen werden. Es kann somit davon ausgegangen werden, daß die Aromamuster in hohem Maße genotypische Merkmale darstellen. Das in Abbildung 1 dargestellte Schema der Aromatypen zeigt drei Hauptgruppen:

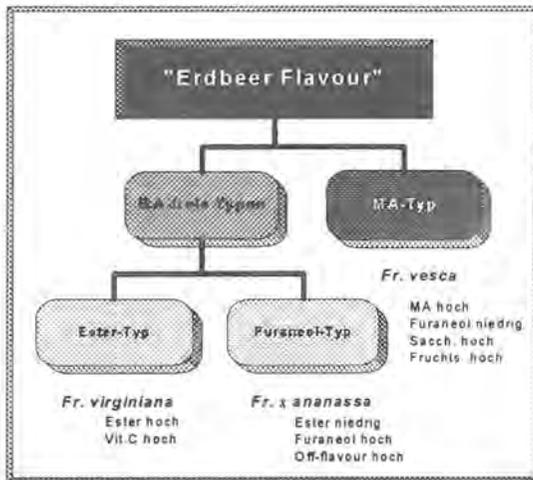


Abb. 1: Aromatypen bei der Erdbeere

1. Der „MA-Typ“ umfaßt Erdbeervarietäten, die neben hohen Anteilen Methylantranilat auch weitere „würzige“ Komponenten wie Eugenol und Nicotinsäureester enthalten. Zu dieser Gruppe gehören die als sensorisch gut bis sehr gut bewertete Walderdbeere (*Fragaria vesca*) und die sehr alte Kultursorte 'Mieze Schindler'.
2. In die Gruppe des 'Virginiana-Typs' ordnen sich neben der Wildart *Fragaria virginiana* Erdbeerformen ein, deren Aroma wesentlich durch frische Esterkomponenten geprägt wird (Sorte 'Polka').
3. Dem 'Furaneol'-Typ entspricht ein Aromamuster, das neben den typischen positiven Aromaeindrücken auch Off-flavour-Anteile enthält, die durch sehr hohe Gehalte an Furaneol, Methoxyfuraneol, Buttersäure, Capronsäure und Caprylsäure verursacht werden.

Die SPME-Analyse, bei der eine Trimethylsiloxanfaser als stationäre Phase eingesetzt wird, erfaßt mit guter Wiederfindungsrate und Reproduzierbarkeit Carbonsäureester einschließlich Methylantranilat sowie weitere erwünschte Aromasubstanzen. Da in Kreuzungsnachkommen der  $F_1$ -Generation von *Fragaria ananassa* MA nachgewiesen werden kann, soll die SPME als effektive Screeningmethode für erwünschte Aromakomponenten im Zuchtprozeß getestet werden.

Mit Hilfe statistischer Verfahren wurden Zusammenhänge zwischen den Inhaltsstoffprofilen und der senso-

rischen Bewertung durch ein Prüferpanel nachgewiesen (Abb. 2).

BiPlot of Preference Ratings for Strawberry and Sensory Judges

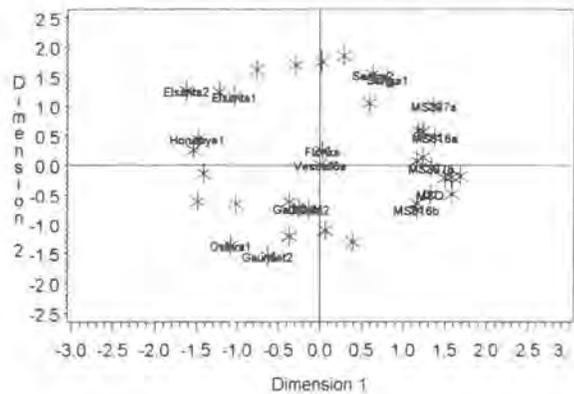


Abb. 2: Hauptkomponentenanalyse für neun Erdbeervarietäten auf Basis der flüchtigen Inhaltsstoffe

#### Abstract:

The scheme for sensory evaluation of strawberry varieties by profile analysis has been confirmed. Extraordinary types like wild species and extreme types of progenies in breeding material have been recognized additionally. An artificial standard related to sweetness and sourness enables the comparison all over the test time. Genetic diversity is reflected last but not least also in a high variability of flavouring constituents. On the basis of 14 varieties, grown at the experimental garden in Quedlinburg in 1994 and 1995, the analyzed non volatile flavouring substances and the sensory results have been used for the variance analysis to test the significances of the influence of the individual data. According to the analytical/sensory results the strawberry genotypes can be classified into the following 3 groups:

1. high amount of dry matter and fruity acids; woody-strawberry-like, methyl anthranilate flavour;
2. high ester content, no methyl anthranilate;
3. high furaneol content, low ester content, no methyl anthranilate, very often off-flavour.

(BAZ-1211)

In Zusammenarbeit mit: Dathe, BAZ, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz; Rapp, BAZ, Inst. f. Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen; Hammer, Genbank, IPK, Gatersleben; Schaefer, Lehr- und Versuchsanstalt, Quedlinburg

#### 4.2 Bewertung der sensorischen Qualität neuartiger *Brassicaceen*-Bastarde unter Berücksichtigung geschmacksbildender Inhaltsstoffe Evaluation of sensory quality of new bastards of *Brassicaceae* with regard to flavour-determining components

Hoberg, E.; Clauß, E.; Ulrich, D.; Schütze, W.

*Glucosinolate üben vielfältige und konträre Einflüsse auf den Gesundheits- und Genußwert von Gemüse aus. Nach der Bewertung des Glucosinolatgehaltes mit chromatographischen Methoden wird die sensorische Prüfung an neuen *Brassicaceen*-Bastarden durchgeführt, um bereits in der Phase der Schaffung von Basismaterial solche Formen zu erfassen, die sich durch hohe positive gesundheitliche Wirkung auszeichnen und diese Eigenschaften mit einer guten sensorischen Einschätzung durch den potentiellen Konsumenten verbinden.*

*Glucosinolates have manifold and contrary influence on health and the acceptance of vegetables. After the evaluation of the glucosinolate content in new brassica bastards by chromatographic methods, sensory tests have been carried out. By this procedure those genotypes will be selected which are characterized by positive healthy effects as well as good sensory properties.*

Die sensorische Prüfung der von den Kanarischen Inseln stammenden *Brassicaceen*-Bastarde und -Genotypen (Primitivformen von *Brassica oleracea*) folgte bezüglich der Komponentenauswahl und -beschreibung im wesentlichen dem von SCHRÖDER 1994 vorgelegten Schema. Da nicht alle Geruchs- und Geschmacks-Charakteristika in dieses Schema einzuordnen waren und wegen der genetischen Vielfalt auch keine einheitliche Komponentenbezeichnung definiert werden konnte, wurden diese Merkmale unter „sonstige“ vermerkt. Dadurch soll verhindert werden, daß dem Züchter Informationen zu seinem Material vorenthalten werden. Sowohl die Beschreibung des Geruches als auch des Geschmackes fiel für die kanarischen Genotypen einheitlicher aus als für die Bastarde. Herausragend ist die grün-grasige Richtung beim Geruch, während kohlarartige Noten weniger stark wahrgenommen werden. Dagegen werden die bittere, die grün-grasige und die scharfe Geschmacksrichtung eindeutig registriert. Größer ist die Variabilität zwischen den Genotypen bei den einzelnen Merkmalen. Es lassen sich Typen nachweisen, die weniger bitter und scharf schmecken, anstelle dessen aber einen ausgeprägten Geschmack aufweisen (Abb. 1).

Hierdurch ist die Akzeptanz dieser Typen im Vergleich zu den kanarischen Formen bei den Prüfern zu erklären. Einen wichtigen Einfluß auf die Beliebtheit der vorgestellten *Brassicaceen* hat der richtige Erntezeitpunkt. So verbesserte sich die Akzeptanz zwischen den Monaten Juni und Oktober bei 3 von 4 wiederholt geprüften Bastarden.

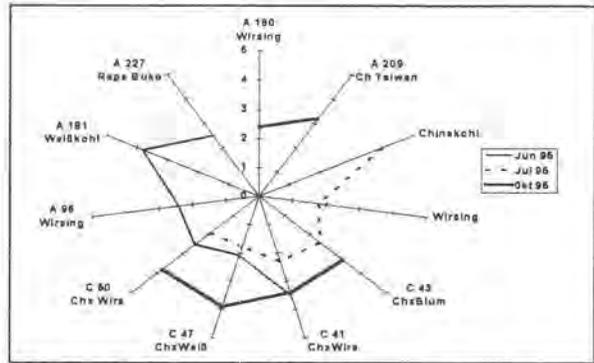


Abb. 1: Bewertung der Beliebtheit von *Brassica*-Genotypen in Abhängigkeit vom Erntezeitpunkt

Insgesamt 22 Kohlvarietäten werden mit Hilfe der flüssig-flüssig-Extraktion aufgearbeitet und die Extrakte mittels GC/FID im Hinblick auf die flüchtigen Inhaltsstoffe untersucht. Die sensorische Bewertung der Extrakte und die GC/Olfaktometrie zeigen, daß die typischen Aromastoffe der *Brassicaceen* erfaßt werden können. Einige Kohlsorten zeigen in den Sniffing-Experimenten neben den typischen Kohlgerüchen auch blumige Noten (Chinakohl). Mittels GC/MS können bisher etwa 25 Aromasubstanzen, darunter Isothiocyanate, identifiziert werden.

Die untersuchten *Brassicaceen*-Bastarde besitzen ein sehr differenziertes Glucosinolatspektrum bei stark variierendem Gesamtgehalt. Auffällig waren die in dem Material von den Kanarischen Inseln teilweise sehr hohen Indolglucosinolatgehalte, speziell die von Glucobrassicin (GBC) als einer aus ernährungsphysiologischer Sicht positiv zu bewertenden Verbindung. Bei weiteren Untersuchungen des GSL-Gehaltes sensorisch geprüfter *Brassica*-Gemüsearten fiel im Blumenkohl der durchgängig in allen Proben auftretende hohe Gehalt an Sinigrin (SIN) auf. Bei den geprüften Rotkohlförmigen lagen die Gehalte durchschnittlich um den Faktor 3 tiefer. In Chinakohl, Brokkoli und Kohlrabi hingegen wurde kein Sinigrin bei insgesamt niedrigem Gesamtglucosinolatgehalt nachgewiesen.

#### Abstract:

22 extracts of *Brassica* varieties are prepared by fluid-fluid-extraction; the volatiles are analyzed by GC/FID. The sensory impression of the extracts as well as the GC/olfactometry measurements lead to the conclusion that the aroma key compounds can be registered. At sniffing experiments some varieties show flowery notes (china cabbage). 25 aroma compounds including isothiocyanates are identified by GC/MS. An assortment of new bastards of *Brassicaceae* and of primitive types of *Brassica oleracea* grown at the Canaric Islands beside common varieties of *Brassicaceae* were investigated by sensory as well as chromatographic methods to evaluate the flavour and flavour determining compounds, respectively. Odour (sensory impression and GC-sniffing) and taste registered at this plant material differ to high extend. Variability is caused not only by the different genotypes but also by influences during the growing

period. It can be suggested, that both the composition and total content of individual glucosinolates contribute to the flavour of the investigated *Brassicaceae* types.

(BAZ-1212)

152

#### 4.3 Entwicklung von Methoden zur Bestimmung der Aromastoffe in Obst und Gemüse

##### Development of methods for the determination of aroma compounds in fruits and vegetables

Ulrich, D.

*Für die Züchtung von resistentem bzw. tolerantem Obst- und Gemüsebasismaterial mit guten geschmacklichen Eigenschaften sind züchtungsspezifische Methoden zur Analyse der Aromastoffe zu entwickeln. Aus der Vielzahl der flüchtigen Inhaltsstoffe sind mit einer geeigneten Methodik die wesentlichen Aromakomponenten, sog. „Schlüsselkomponenten“, zu ermitteln und auf dieser Basis effektive Methoden zur Analyse zu entwickeln.*

*The aim is to develop specific methods for the analysis of aroma compounds, applicable for the breeding process of resistant or tolerant fruits and vegetables. The high number of volatiles must be reduced by suitable methodology to find out the essential aroma compounds, the so-called „key compounds; upon this basis efficient methods for analysis must be developed.*

Die Arbeiten zur Aromaanalytik konzentrierten sich auf die Kulturen Kartoffel und Sauerkirsche. Bei Kartoffeln wurden 6 Sorten mit unterschiedlichen sensorischen Eigenschaften sowie ein Zuchtstamm in die Untersuchungen einbezogen. Als Standardmethode der Probenvorbereitung wurde die flüssig-flüssig-Extraktion mit Trichlorfluormethan als Extraktionsmittel eingesetzt. Die gewonnenen Extrakte weisen den charakteristischen Geruch von gekochten Kartoffeln in hoher Intensität auf, so daß davon auszugehen ist, daß die wesentlichen Aro-

makomponenten auf diese Weise erfaßt werden können. Mit Hilfe der GC-Olfaktometrie (GC-Sniffing) wurden durch Aromaextrakt-Verdünnungsanalyse zwei intensiv sensorisch aktive Bereiche im resultierenden Chromatogramm an einer Wax-Säule ermittelt, die einerseits den typischen, positiv zu bewertenden „Kartoffelgeruch“ sowie andererseits einen Off-flavour aufwiesen. Mit Hilfe der GC/MS-Kopplung konnten bisher insgesamt etwa 50 Substanzen in den Extrakten identifiziert werden.

Bei Sauerkirsche wurde der Arbeitsschwerpunkt auf die Entwicklung einer effektiven Analysenmethode für die Schlüsselkomponente Benzaldehyd gelegt, da diese Aromakomponente für die industrielle Verarbeitung als Qualitätsmerkmal herangezogen wird. Mit Hilfe der Festphasen-Mikroextraktion (SPME) unter Verwendung einer Polydimethylsiloxanfaser ist Benzaldehyd neben anderen Komponenten erfaßbar und quantifizierbar.

##### Abstract:

The aroma key compounds of cooked potatoes and sour cherries are determined by fluid-fluid-extraction using freon as extraction solvent and by solid phase micro extraction (SPMA) using a polydimethylsiloxane fiber as adsorbens, respectively. Applying GC-sniffing at cooked potato extracts, the individual chromatogrammes show two regions with strong sensory impressions. One region represents the typical positive „potatoe character“ wheres the other region ist highly influenced by „off-flavour“ compounds.

(BAZ-1213)

In Zusammenarbeit mit: Rapp, BAZ, Inst. f. Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen; Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz

153

## Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse

### Institute for Breeding Methods in Vegetables

Quedlinburg

Das Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse arbeitet an der Optimierung und Adaptierung bekannter sowie der Entwicklung neuer Methoden für die Züchtung von Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzen. Ebenso werden Forschungsarbeiten an geeigneten Modellsystemen durchgeführt. Die Palette genetischer, pflanzenphysiologischer, biochemischer, molekularbiologischer, cytogenetischer und bildanalytischer Techniken wird genutzt, um die einzelnen Arbeitsziele effektiv zu erreichen: 1.) Erstellung und Charakterisierung interspezifischer Hybriden zur Übertragung wichtiger Eigenschaften; 2.) Erzeugung transgener Pflanzen mit neuen Resistenzen; 3.) Markergestützte Selektion; 4.) Computergestützte und molekulare Chromosomenanalyse; 5.) Erarbeitung alternativer Nutzungskonzepte für Kulturpflanzenarten. Die Integration klassischer und molekularbiologischer Analysemethoden bei konventionell und gentechnisch hergestelltem Pflanzenmaterial erlaubt eine effiziente Optimierung der Züchtungsmethodik.

The Institute for Breeding Methods in Vegetables is engaged in optimization and adaptation of already known as well as in the development of new methods for breeding of vegetable, medicinal and spice plants. In addition, research projects are followed up using adapted model systems. The range of genetic, plant physiological, biochemical, molecular biological, cytogenetic and image analytical techniques is applied for efficient achievement of the individual research goals: 1.) Development and characterization of interspecific hybrids for transfer of important traits; 2.) Generation of transgenic plants with new resistances 3.) Marker-assisted selection; 4.) Computer-aided and molecular analysis of chromosomes; 5.) Development of new applications for crop plant species. By integration of conventional and molecular biological methods for analysis on classically bred and genetchnologically modified plant material the breeding methods will be efficiently optimized.

#### 1. Erstellung und Charakterisierung interspezifischer Hybriden zur Übertragung wichtiger Eigenschaften

##### Development and characterization of interspecific hybrids for transfer of important traits

- 1.1. Molekulargenetische Charakterisierung und Untersuchung der genetischen Stabilität von *Brassica-Raphanus*-(OGURA)-Bastarden mit dem Ziel der Entwicklung eines nebenwirkungsfreien cms-Systems für die Gemüsekohlzüchtung
- Molecular genetic characterization and investigation of genetic stability of *Brassica/Raphanus* (OGURA) bastards for the development of an efficient cms-system for cabbage breeding
- Nothnagel, T.; Budahn, H.

*Ziel des Projektes ist die molekulare und phänotypische Charakterisierung von somatischen Hybriden zwischen B.oleracea-plasmatischem Blumenkohl und OGURA (R.sativus)-plasmatischem Blumenkohl. Mittels Southern-Hybridisierung sollen Cybriden (Chloroplasten von B. oleracea und Mitochondrien von cms-bedingendem OGURA Cytoplasma) selektiert werden. Derartige Pflan-*

*zen sollen hinsichtlich ihrer züchterischen Eignung untersucht werden.*

*The aim of the project is the molecular and phenotypic characterization of somatic hybrids between B. oleracea-cytoplasmatic and OGURA (R.sativus)-cytoplasmatic cauliflower. By means of Southern-hybridization cybrids (plants with chloroplasts from B. oleracea and the cms-causing mitochondria of the OGURA cytoplasm) are selected. Such plants will be investigated for their breeding ability.*

In dem in den letzten Jahren entwickelten, für züchterische Zwecke geeigneten, cms-Material konnten mittels Southern-Hybridisierung verschiedene Cytoplasmatypen nachgewiesen und dementsprechend Linien aufgebaut werden. Alle Linien verfügen über das Plastidengenom (ptDNA) von *Brassica oleracea* und sind damit kältetolerant gegenüber Temperaturen unter 15 °C. Das Mitochondrien-Genom wurde durch Hybridisierung der mtDNA-Sonden *coxII*, *coxIII*, *D23*, *cob*, *rp15/rps14*, *atp9*, *atpA* und *atp6* gegen isolierte Gesamt-DNA charakterisiert. Für die Sonden *cox II*, *atp9*, *atp6* und *rp15/rps14* wurde bei allen Linien einheitlich das *B. oleracea*-Muster nachgewiesen, bei letzterer zusätzlich bei zwei Linien das OGURA-Muster. Dagegen zeigten Hybridisierungen mit der Sonde *D23* und der Sonde *coxIII* außer einer Linien einheitlich das OGURA-

Muster. Ein völlig neues Bandenmuster konnte bei der Hybridisierung mit der cob- und der atpA-Sonde gezeigt werden (Rekombinationen). In einem Vergleich der Mitochondriengenome der entwickelten Linien und 6 französischer F<sub>1</sub>-Kohlhybriden sowie der französischen F<sub>1</sub>-Rapshybride 'SYNERGY', alle basierend auf dem im INRA entwickelten Ogu-INRA-System, konnte unser Material von dem französischem Material mit mehreren mtDNA-Sonden eindeutig differenziert werden. Das Material wurde mit verschiedenen Kohlvarietäten rückgekreuzt. Saatgut wurde bereits an 5 deutsche Gemüsezüchter über die GFP abgegeben. Mit der GFP ist ein gemeinsames Forschungsvorhaben erarbeitet worden, in dessen Rahmen die Eignung des entwickelten cms-Materials unter praktischen Bedingungen in den Züchtungsbetrieben untersucht werden soll.

**Abstract:**

Recently, using the OGURA cytoplasm, cytoplasmic male sterile cabbage material has been generated for cabbage breeding, which has been characterized in detail at molecular genetic level. Clear differences have been detected in comparison to material originating from INRA (France) at genetic level. Cms-lines have been backcrossed with different cabbage varieties. Seeds had been given to five German vegetable breeders in the context of a BAZ-GFP-agreement for practical assessment of the new material.

(BAZ-1307)

154

**1.2. Entwicklung von Sinapis-plasmatischen Gemüsekohl-Linien (*Brassica oleracea*) als potentielle Quelle cytoplasmatischer männlicher Sterilität**  
**Development of Sinapis-plasmatic *Brassica oleracea* lines as a potential source of cytoplasmic male sterility**

Nothnagel, T.; Budahn, H.; Schrader, O.

An regenerierten somatischen Hybriden zwischen *Brassica oleracea* und *Sinapis alba* sollen mittels Southern-Hybridisierung die Organellengenome (Chloroplasten und Mitochondrien) charakterisiert werden. Für die Entwicklung alloplasmatischer bzw. cybrider *B. oleracea*-Linien sollen die somatischen Hybriden mit *B. oleracea*-Varietäten rückgekreuzt werden. Zielstellung ist die Induktion cytoplasmatischer männlicher Sterilität durch Einlagerung des *B. oleracea*-Genoms in das Cytoplasma von *S. alba*.

Regenerated somatic hybrids between *Brassica oleracea* and *Sinapis alba* will be characterized for their organelle genomes (chloroplasts and mitochondria) by means of Southern hybridization. For the development of alloplasmic or cybrid *B. oleracea* lines the somatic hybrids will be backcrossed with *B. oleracea* varieties. The aim is the induction of cytoplasmic male sterility by the introduction of the *B. oleracea* genome in the cytoplasm of *S. alba*.

BC1F<sub>2</sub>- und BC<sub>2</sub>- Nachkommenschaften aus somatischen Hybriden zwischen *Sinapis alba* und *Brassica oleracea* wurden weiterhin intensiv untersucht. Linien mit den vier möglichen Organellen-Genom-Varianten (mt-Genom und pt-Genom von einem der Eltern oder Cybrid-Genome) konnten stabil vermehrt werden. Alle Pflanzen mit dem Mitochondriengenom von *S. alba* waren männlich steril. Pflanzen mit dem *B. oleracea*-mt-Genom waren z.T. völlig männlich fertil oder partiell fertil. Das männlich sterile Material wurde mit verschiedenen *B. oleracea*-Varietäten rückgekreuzt, das fertile Material wurde geselbstet. Von 20 Pflanzen konnte bisher die Chromosomenzahl bestimmt werden. 7 BC1F<sub>2</sub>-Pflanzen wiesen 34 Chromosomen auf, 2 Pflanzen hatten 40 Chromosomen und je eine Pflanze 35, 36 bzw. 38 Chromosomen. Das BC<sub>1</sub>-Material war dagegen schon stark abreguliert. Bisher wurden 6 Pflanzen mit 20 und 2 Pflanzen mit 22 Chromosomen bestimmt. Erste Meioseanalysen zeigten neben den erwarteten Bivalenten (*B. oleracea*) auch Uni-, Tri- und Quadrivalente, ein Indiz für das Vorhandensein von *S. alba*-Chromosomen. Das Auftreten von *S. alba*-spezifischen morphologischen Merkmalen sowie der teilweise Nachweis eines *S. alba*-spezifischen Isoenzymusters in den BC1F<sub>2</sub>- und BC<sub>2</sub>-Pflanzen sind weitere Indizien für das Vorhandensein und die Aktivität von *S. alba*-Chromosomen.

Bereits 1994 begonnene Resistenzprüfungen gegenüber *Alternaria brassicicola*, *A. brassicae* und *Phoma lingam* wurden fortgesetzt und zeigten sowohl in dem BC1F<sub>2</sub>- als auch in dem BC<sub>2</sub>-Material ein stark variierendes Resistenzniveau. Pflanzen mit Einfach-, Doppel- und Dreifach-Resistenz wurden selektiert und geselbstet (BC1F<sub>3</sub>) bzw. rückgekreuzt (BC<sub>3</sub>). Erste Nachkommenschaftsanalysen zeigten eine Segregation im Resistenzniveau, z.T. wurde das Resistenzniveau der Ausgangspflanzen (BC1F<sub>2</sub>, BC<sub>2</sub>) erreicht.

**Abstract:**

Somatic hybrids between *Sinapis alba* and *Brassica oleracea* are used as new sources for cytoplasmic male sterility. Differences in fertility could be detected correlating to the type of mitochondrial genome. The presence of *S. alba* chromosomes was proven in the hybrids. In addition to the cms investigations, resistance tests have been carried out for this material.

(BAZ-1308)

In Zusammenarbeit mit: Scholze, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

155

### 1.3. Entwicklung neuer Quellen der cytoplasmatisch männlichen Sterilität (cms) für die Hybridzüchtung der Speisemöhre (*Daucus carota sativus* Hoffm.)

Development of new sources of cytoplasmatic male sterility (cms) for hybrid breeding of carrots (*Daucus carota sativus* Hoffm.)

Nothnagel, T.; Straka, P.

Zielstellung des Projektes ist die Induktion cytoplasmatisch männlicher Sterilität durch die Entwicklung alloplasmatischer Formen der Möhre. Ein breites Sortiment von Wildarten und Unterarten der Gattung *Daucus* wird in einem Kreuzungsprogramm als mütterlicher Partner (Cytoplasma-Donor) genutzt. Der genetische Hintergrund und die züchterische Eignung neuer cms-Quellen werden an Rückkreuzungsnachkommenschaften geprüft.

The aim of the project is the induction of cytoplasmatic male sterility by development of alloplasmatic carrots. A broad collection of wild species and subspecies of the genus *Daucus* is used in a crossing programme as female parent (cytoplasm donor). The genetic background and the breeding ability of new cms-sources is investigated in backcross progenies.

Männlich steriles Material aus *Daucus*-Artkreuzungen wurde weiter evaluiert. Dabei konzentrierten sich die Arbeiten auf die Kombinationen *D.c. maritimus* x *D.c. sativus* und *D.c. gadacei* x *D.c. sativus*. 4 analysierte BC<sub>1</sub>-Nachkommenschaften (87 Pflanzen) mit dem *D.c. maritimus*-Cytoplasma waren ausschließlich männlich steril. Das Ergebnis stimmte mit den Analysen von 1994 überein. Darüber hinaus wurden 120 BC<sub>2</sub>-Pflanzen dieser Kombination analysiert. Es zeigte sich erstmals in dieser Kombination eine Segregation in männlich sterile und partiell männlich fertile Pflanzen. Damit ist die Existenz eines kerncodierten Restorergens wahrscheinlich. Das partiell fertile Material wurde geselbstet und für eine Spaltungsanalyse 1996 ausgesät.

Bereits 1994 wurde in der Wildart *D.c. gadacei* eine männlich sterile Pflanze gefunden, die durch weiße Petalen gekennzeichnet und deren Antherenentwicklung auf kurze, filamentähnliche Strukturen beschränkt war (Abb. 1).

Diese Pflanze ist mit einer Kulturmöhre gekreuzt worden und eine 40 Pflanzen umfassende F<sub>1</sub>-Nachkommenschaft konnte 1995 analysiert werden. Alle F<sub>1</sub>-Pflanzen waren hinsichtlich Blütenmorphologie mit der Mutterpflanze identisch, d.h. männlich steril. 10 F<sub>1</sub>-Pflanzen wurden mit verschiedenen Kulturmöhrensornten rückgekreuzt (BC<sub>1</sub>). Das Material wurde bereits ausgesät und wird 1996 analysiert.

#### Abstract:

*Daucus*-interspecific crosses are followed up with the aim to establish new cytoplasmatic male sterility traits. The use of wild species successfully lead to new cms



Abb. 1: Doldenausschnitt einer männlich sterilen Pflanze der Wildart *D. c. gadacei*

lines which are analyzed and characterized in further crosses.

(BAZ-1309)

156

### 1.4. Analyse pro- und postgamer Kreuzungsbarrieren bei der Entwicklung interspezifischer *Allium*-Bastarde

Analysis of pro- and postgamic barriers of crossability in the development of interspecific *Allium* hybrids

Peterka, H.; Budahn, H.

Ziel des Projektes ist die Erzeugung von *Allium*-Artbastarden, die für die Züchtung auf Qualität, Resistenz und zur Induktion von männlicher Sterilität für die Hybridzüchtung benötigt werden. Als Methoden werden eingesetzt: Artkreuzungen, Fluoreszenz-Mikroskopie, Untersuchungen der Embryosackentwicklung, Embryokultur, Bastardnachweis mit molekularen und cytologischen Verfahren. Verwendete Arten sind Zwiebel, Porree, Schnittlauch und Winterlauch.

Aim of the project is the production of interspecific hybrids of *Allium* which are needed for breeding for quality, resistance and for induction of male sterility in hybrid breeding. Following methods are used: species crosses, fluorescence microscopy, investigation of embryo sac development, embryo culture, molecular and cytological techniques on hybrids. Species crossed are onion, leek, chive and Welsh onion.

Nach interspezifischen Kreuzungen zwischen Zwiebel, Schnittlauch und Porree im Jahre 1994 mit anschließender In-vitro-Kultur von Fruchtknoten und Samenanlagen

wurden Pflanzen erhalten, deren genetische Konstitution untersucht wurde.

Pflanzen aus der Kreuzung zwischen diploidem Schnittlauch (*Allium schoenoprasum*) und Zwiebel (*A. cepa*) besaßen dieselbe Chromosomenzahl von  $2x = 16$  wie die Eltern. Das Vorhandensein nur eines acrozentrischen Schnittlauch-Chromosoms und vor allem die deutlichen Unterschiede in der Länge zwischen den beiden Chromosomenkomplementen aus den jeweils 8 Elternchromosomen zeigten den Bastardcharakter der erhaltenen Pflanzen. Die Vitalität der Pflanzen nach Umsetzen auf Erdsubstrat war äußerst gering. Die Blätter wurden chlorotisch, und nur wenige Pflanzen erreichten das Blühstadium.

Die Pflanzen aus der Kombination zwischen Schnittlauch und Porree (*A. ampeloprasum*) besaßen nur 16 Chromosomen mit den zwei für Schnittlauch typischen acrozentrischen Chromosomen statt der erwarteten Bastardchromosomenzahl von 24. Da Selbstung nahezu ausgeschlossen werden kann, könnten die Pflanzen apomiktisch entstanden sein. Morphologie und RAPD-Muster der Pflanzen sprechen gleichfalls für diese Hypothese.

Die Artkreuzungen zwischen Zwiebel und Porree ergaben Bastardpflanzen mit meist 24 Chromosomen. Genomische In-situ-Hybridisierung (GISH) mit Digoxigenin-markierter Zwiebel-DNA an Mitosechromosomen aus Wurzelspitzen bestätigte, daß die untersuchte 24chromosomige Bastardpflanze 8 *cepa*- und 16 *ampeloprasum*-Chromosomen besitzt. Southern-Hybridisierungen mit den mitochondrialen Sonden *cox II* und *cob* an Gesamt-DNA der Bastarde ergaben keine Abweichungen vom S-Plasma des weiblichen Elters Zwiebel. Nach Vernalisation gelang es, einige Bastardpflanzen

zur Blüte zu bringen. Zwiebel-Porree-Bastarde sind dem männlichen Elter Porree in der Ausbildung von Schaft, Blatt und Infloreszenz ähnlich. Ihre Blütenform ist dagegen intermediär zu den sternartig abstehenden Hüllblättern der Zwiebel einerseits und der glockigen Blüte von Porree andererseits ausgebildet (Abb. 1).

Die Bastarde sind vollkommen männlich steril. Erste Rückkreuzungen mit Porree als Pollenelter ergaben keinen Samenansatz. Unbekannt ist bisher, ob die Pollenschläuche von Porree in Bastardgriffeln wieder ungestört in die Mikropyle einwachsen konnten und ob Befruchtung nicht stattfinden kann, weil die weiblichen Gameten wegen des vermutlich stark gestörten Meioseablaufs genetisch unbalanciert und funktionsuntüchtig sind. Um die letztgenannte Sterilitätsursache überwinden zu können, wurden Bastardpflanzen zunächst mit verschiedenen Explantaten (Basalplatte, Blütenstand) *in vitro* vermehrt und danach colchiciniert.

Es wurde ein neuer Kreuzungszyklus begonnen, in dem neben *A. cepa* und *A. schoenoprasum* auch *A. fistulosum* durch *A. ampeloprasum* bestäubt wurde. Vorläufige Analysen des entstandenen Materials weisen auf die erstmalige Entstehung von *fistulosum* x *ampeloprasum*-Bastarden hin.

Diese erzeugten neuartigen *Allium*-Bastarde sind Ausgangspunkt für weitere Arbeiten zur Introgression von Resistenz- und Qualitätseigenschaften und für die Induktion von cytoplasmatischer männlicher Sterilität insbesondere bei Porree.

#### Abstract:

Following analysis of the reasons for unsuccessful crosses between leek and other cultivated species of the genus

*Allium* methods have been developed to overcome these crossing barriers. The following new hybrids have been obtained: common onion x leek, Welsh onion x leek, chive x common onion. These hybrids will be used to produce cytoplasmic male sterile lines of leek as well as to transfer resistance genes between *Allium* species.

(BAZ-1311)

In Zusammenarbeit mit: Ryschka, Schumann, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

157

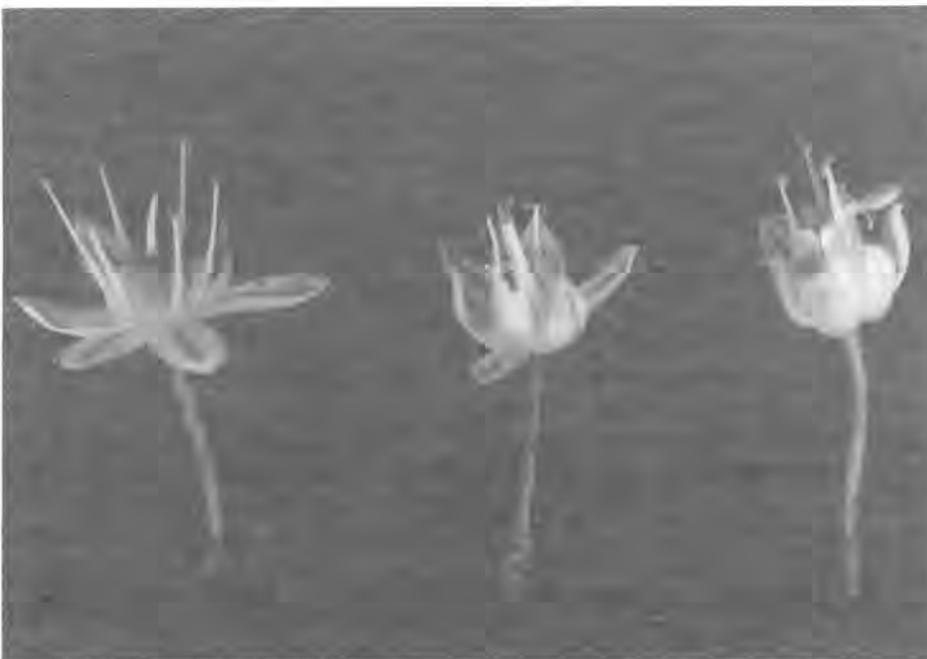


Abb. 1: Einzelblüte von Zwiebel, *Allium cepa*, (links) und von Porree, *A. ampeloprasum*, (rechts) sowie ihres Artbastards (Mitte)

**1.5. Entwicklung von Methoden zur Bestimmung von Protein- und Isoenzym polymorphismen bei Gemüsekultur- und -wildarten unterschiedlicher Ploidiestufen als Voraussetzung für ihre Nutzung als Marker in zuchtmethodischen Untersuchungen und bei Art- und Gattungsbastardierungen**  
**Protein and isoenzyme polymorphisms in cultivated and wild species of vegetables with different levels of ploidy and their use as markers in selection, breeding and production of interspecific and intergeneric hybrids**

Straka, P.; Clauß, E.; Nothnagel, T.; Peterka, H.

*Ziel des Forschungsvorhabens ist es, Methoden der Analyse von Isoenzym- und Proteinpolymorphismen zur Charakterisierung und Identifizierung von interessantem Pflanzenmaterial sowie zur Nutzung von Markerfaktoren für interessante Merkmale bei unterschiedlichen Gemüseformen zu entwickeln.*

*Aim of the project is the development of methods for analysis of isoenzyme and protein polymorphisms for the characterization and identification of interesting plant material as well as for application of markers for interesting traits in different vegetables.*

Im Rahmen der Analyse der Genomkonstitution regenerierter somatischer Hybriden zwischen *Brassica oleracea* und *Sinapis alba* wurden nach Rückkreuzung mit *B. oleracea* Isoenzymanalysen zum Nachweis *S. alba*-spezifischer Gene durchgeführt. Es wurden neun verschiedene Isoenzymssysteme getestet: Aromatische Alkoholdehydrogenase, Alkoholdehydrogenase, Aspartataminotransferase, Diaphorase, Esterase, Leucinaminopeptidase (LAP), Menadionreduktase, Shikimatdehydrogenase, 6-Phosphogluconatdehydrogenase, Malatdehydrogenase. Die Enzymfraktionierung erfolgte mittels konventioneller Elektrophorese bzw. isoelektrischer Fokussierung in Polyacrylamidgel bzw. in Stärkegel. Die erhaltenen Enzymmuster wurden mit denen der Ausgangsformen verglichen. Aufgrund des vorhandenen Enzym polymorphismus war von den analysierten Systemen nur die LAP für den Nachweis *Sinapis*-spezifischer genetischer Information in Hybriden geeignet. Spaltungen in Selbstungsnachkommenschaften wurden nachgewiesen. Die Entwicklung genetischer Karten ist eine wichtige Voraussetzung für die Nutzung unterschiedlicher Markerfaktoren im Rahmen genetischer Analysen. Die Ackerbohne, *Vicia faba*, ist eine der ältesten Kulturpflanzen und hat als Proteinquelle bis heute eine unbestrittene Bedeutung. Die Anzahl der verfügbaren Marker bei dieser Kultur war jedoch bisher relativ eingeschränkt. Mit dem Ziel, Markerfaktoren bei *V. faba* zu entwickeln, wurden Isoenzymanalysen begonnen. Bisher konnten sechs verschiedene Isoenzymssysteme charakterisiert werden.

Zur Integration von im Rahmen resistenzgenetischer Untersuchungen nachgewiesenen RAPD-Markern für das *sbm-1*-Gen in die genetische Karte von *Pisum* wurden Methoden zum Nachweis des auf dem Chromosom 6 lokalisierten Isoenzymgens *Prx-3* etabliert und getestet.

Die Kopplungsanalyse zwischen RAPD-Markern, dem analysierten Isoenzymgen *Prx-3* sowie dem *sbm-1*-Locus wurde mit dem Programm MAPMAKER durchgeführt.

Abstract:

Isoenzyme analysis was used to identify genetic information in somatic hybrids between *Brassica oleracea* and *Sinapis alba*, especially introgressions of parts of the *Sinapis* genome. 9 isoenzyme systems have been tested. Only LAP generated polymorphisms for the *Sinapis* genome in the hybrids. In self pollinated progeny a segregation for these marker bands was determined.

Six different isoenzyme systems were analysed to increase the number of useful markers in *Vicia faba*. To locate new RAPD-markers linked to the *sbm-1* locus on chromosome 6 of *Pisum* the segregation of the isoenzyme *Prx-3* was determined. The MAPMAKER software was used to analyze the linkage of the different loci for integration of the new markers in the genetic map of *Pisum*.

(BAZ-1315)

158

**1.6. Entwicklung von Methoden für die Herstellung und Selektion von interspezifischen und intergenerischen Bastarden bei Brassicaceae (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*) und ihre isoenzymanalytische und cytologische Charakterisierung in Kombinationen mit Aphiden- und Virus-Resistenztests**  
**Development of methods for production and selection of interspecific and intergeneric hybrids in Brassicaceae (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*) and their characterization by isoenzyme and cytological methods in combination with virus and aphid resistance tests**

Clauß, E.; Straka, P.; Schrader, O.; Ahne, R.

*Biochemische und zytogenetische Charakterisierung von neuen synthetischen Gemüseerapsformen, RRCC-/RRAA-Raphanobrassica u. Raphanus-Sinapis-Bastarden zur Erfassung der genetischen Variabilität unter dem Aspekt der Selektion resistenter Genotypen (TuMV, Grüne Pfirsichblattlaus, Mehlig Kohlblattlaus, Alternaria, Phoma, Plasmodiophora, Rübennematoden). Methodischer Ansatz: Erarbeitung und Anwendung methodischer Grundlagen für die Herstellung und Selektion des Bastardmaterials, dessen isoenzymelektrophoretische und cytologische Charakterisierung (Bildverarbeitung zur objektiven Karyotypanalyse) und Prüfung auf Resistenzeigenschaften.*

*Biochemical and cytogenetic characterization of new synthetic vegetable rape forms, RRCC-/RRAA-Raphanobrassica and Raphanus-Sinapis-hybrids for determination of the genetic variability. Selection of resistant genotypes (TuMV, Myzus persicae, Brevicoryne brassicae, Alternaria, Phoma, Plasmodiophora, beet nematodes). Methods: Development and application of methods for production and selection of hybrid material; isoenzyme and cytological characterization (using image processing facilities); resistance assays.*

Zwischen *Raphanus sativus* (Radies) und *Brassica rapa* (Herbst-/Stoppelrübe) wurden erste Kreuzungsversuche erfolgreich durchgeführt. Ziel der Arbeiten ist es zu klären, ob ein entsprechender Raphanobrassica-Bastard (RRAA;  $2n=4x=38$ ) mit der Kombination des morphologischen Merkmals 'Rübenbildung' beider Elternarten herstellbar und als potentielle neue Gemüseform nutzbar ist. Solche Bastarde würden gleichzeitig ein interessantes Untersuchungsmaterial hinsichtlich der inhaltsstofflichen (z.B. Glucosinolatmuster) und der sensorischen Eigenschaften im Vergleich zu den Elternarten-Genotypen darstellen. In die 1993/94 begonnenen Resistenzprüfungen (TuMV, *Alternaria*, *Phoma*, *Plasmidiophora*, Aphiden) an synthetischen Brassicaceen-Bastarden (AACC, RRCC, RRAA), ihren Elterngenotypen und Nachkommenschaften von bereits als resistent selektierten Einzelpflanzen wurden insbesondere neue Wild- und Primitivformen der Elternarten als potentielle Kreuzungspartner einbezogen. In Prüfungswiederholungen auf TuMV-Resistenz mit einem stärker virulenten Isolat (TuMV2) konnte die mit TuMV 1 bei RRCC-Raphanobrassica-Formen gefundene Resistenz bestätigt, dagegen bei 3 AACC- und 2 RRAA-Bastardformen nicht bestätigt werden. Unter Primitivformen von *Brassica oleracea* (134 Pflanzen von 19 Herkunft von Madeira/Kanarische Inseln) wurden aus 4 Herkunft 9 Pflanzen mit Resistenz gegenüber *Alternaria brassicae* und von 5 Herkunft 7 Pflanzen mit *Phoma lingam*-Resistenz gefunden. Gleichzeitige Resistenz gegenüber beiden Schaderregern lag nur bei einer Pflanze vor. Resistenz gegenüber *Alternaria brassicicola* konnte in diesem Material nicht nachgewiesen werden. Die selektierten Einzelpflanzen werden erhalten (Verklonung/Überwinterung) und dienen weiteren Resistenzprüfungen. In parallelen Freilandversuchen an den Standorten Aschersleben und Quedlinburg erwies sich das auf Aphiden-Resistenz (*Brevicoryne brassicae*) geprüfte Brassicaceen-Bastardmaterial ausnahmslos als anfällig. Resistenz zeigte jedoch eine von 4 geprüften Herkunft von *B.narionosa* (AA;  $2n=2x=20$ ); dieser Genotyp mit auffällig dunkelgrüner Blattfärbung bietet sich z.B. als Kreuzungspartner für spezielle Rapssynthesen an. Die Weiterbearbeitung der 1993/94 aus nematodenresistenten Elterngenotypen erzeugten Raphanosinapis-Bastarde (RRSS,  $2n=4x=42$ ) führte zu gut fertilen Nachkommenschaften. Dieser neue Bastardtyp ist nach ersten Resistenzprüfungen offenbar durchweg hoch nematodenresistent. Erste Rückkreuzungsversuche an Raphanosinapis durch Bestäubung mit den Elternarten *R.sativus* ( $2x, 4x$ ) und *S.alba* ( $2x, 4x$ ) verliefen negativ; demnach scheint keine Gefährdung der Stabilität des Allopolyploiden beim Anbau in unmittelbarer Nähe beider Elternarten zu bestehen. Gegenwärtig erfolgen Kreuzungsversuche mit Raps. An den Raphanosinapis-Bastarden wurden außerdem Untersuchungen zur isoenzymanalytischen Charakterisierung und zum Glucosinolatgehalt/-muster begonnen, u.a. als Grundlage für Prüfungen auf mögliche Zusammenhänge zwischen Glucosinolatgehalt und Nematodenresistenz. In den Versuchen

zur Übertragung der Nematodenresistenz von hochresistenten RRAC-Raphanobrassica in Raps konnten aus 938 Nachkommen der RRAC-Bastarde (Selbstung, Geschwisterbestäubung, Kreuzung mit Raps) 87 resistente Pflanzen selektiert werden, an denen analoge Kreuzungen mit dem Ergebnis von 3076 Samen bemerkenswert erfolgreich verliefen. Das erhaltene Material wird einer erneuten Resistenzprüfung unterzogen. Unter den Nachkommen aus der Kreuzungskombination Raps x RRAC-Raphanobrassica wurden 6 nematodenresistente Pflanzen mit bereits relativ hoher Fertilität gefunden; die z.T. weiße Blütenfarbe dieser Pflanzen bestätigt ihren Bastardcharakter.

Abstract:

For the synthesis of a new RRAA-Raphanobrassica hybrid crosses between *Raphanus sativus* and *Brassica rapa* have been performed successfully. Resistance testing (TuMV, *Alternaria*, *Phoma*, *Plasmidiophora*, aphids) on *Brassicaceae* hybrids (AACC, RRCC, RRAA), parent genotypes and primitive forms of *Brassica oleracea* were used for selection of resistant progeny plants. One new Raphanosinapis hybrid (RRSS;  $2n=4x=42$ ) displayed a high resistance to nematodes but could not be backcrossed with both parent species (*R.sativus*, *S.alba*). Plant lines with resistance to nematodes and with good fertility could be obtained from backcrosses of RRCC-Raphanobrassica lines with rape.

(BAZ-1305)

In Zusammenarbeit mit: Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Krämer, R., Scholze, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- u. Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg; Enderlein, Fa. NPZ, Hohenlieth/Malchow

159

#### 1.7. Untersuchungen zum Glucosinolat- und Fettsäuregehalt bei *Brassicaceae*-Art- und Gattungsbastarden (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis* spp.) für die Entwicklung und Selektion von neuem, züchterisch relevantem Ausgangsmaterial

Investigation of the glucosinolate and fatty acid contents by interspecific and intergeneric hybrids of *Brassicaceae* (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis* spp.) for the development and selection of new basic breeding material

Clauß, E.

Charakterisierung von neuen synthetischen Gemüserapsformen, RRCC-/RRAA-Raphanobrassica und Raphanus-Sinapis-Bastarden unter dem Aspekt des Einflusses von Genomkombination und intergenomatischer Merkmalsübertragung auf Glucosinolat- u. Fettsäuregehalt/-metabolismus und weitere ernährungsphysiologisch wertvolle bzw. geschmacksbeeinflussende Inhaltsstoffe; Selektion von Genotypen mit spezifischen Qualitätsparametern. Methodischer Ansatz: Entwicklung methodischer Grundlagen für die selektive Weiterbearbeitung des Bastardmaterials im Zusammenhang mit der Analyse

von Glucosinolaten, Fettsäuren, Vitamin C,  $\beta$ -Carotin Fruchtsäuren in Verbindung mit sensorischen Prüfungen

*Characterization of new synthetic vegetable rape seed forms RRCC-/RRAA-Raphanobrassica and Raphanus-Sinapis-hybrids for influences of genome combinations especially transfer of traits determining glucosinolate and fatty acid contents and metabolism as well as of further compounds; selection of genotypes with specific quality parameters. Methods: development of methods for selection on glucosinolates, fatty acids, vitamine C,  $\beta$ -carotin, etc. in combination with sensoric flavour testing.*

Die Analysen zum Glucosinolatgehalt (Grünmasse, Samen) und sensorische Prüfungen (Rohverkostung, Kochgemüse) wurden an den Brassicaceen-Art- und Gattungsbastarden, ihren Eltern genotypen sowie an Wild-/Primitivformen insbesondere von *Brassica oleracea* als Grundlage für die Selektion geschmacklich und ernährungsphysiologisch wertvollen Ausgangsmaterials fortgesetzt. Die Glucosinolatanalysen an Primitivformen von *B. oleracea* (19 Herkünfte von den Kanarischen Inseln Teneriffa und El Hierro sowie von Madeira) erfolgten an Einzelpflanzen. Es wurde bei diesem Material eine sehr hohe Variabilität im Glucosinolatgehalt (quantitativ und qualitativ) sowohl innerhalb einzelner Herkünfte als auch zwischen den Herkünften gefunden. Für weitere sensorische Prüfungen zur Klärung möglicher Zusammenhänge zwischen Glucosinolatgehalt und Geschmacksqualität wurden zunächst 6 Einzelpflanzen mit sehr hohem Anteil einzelner Glucosinolate am Gesamtgehalt (Glucobrassicin 72%, Sinigrin 50%, Progoitrin 50%) und zum Vergleich Pflanzen mit ausgeglichenem Glucosinolatprofil ausgewählt und verklont; durch den weitgehend perennierenden Charakter sind diese Primitivformen ein dafür gut geeignetes Versuchsmaterial. Unter analogen Aspekten sind an dem Material außerdem Resistenzprüfungen (*Alternaria*, *Phoma*) vorgesehen. Die Untersuchungen über den Vitamin C- und  $\beta$ -Carotin-Gehalt und den Einfluß von Fruchtsäuren auf die sensorischen Eigenschaften von neuen Gemüsepflanzen aus Art- und Gattungskreuzungen bei Brassicaceen wurden im Rahmen einer Promotion (Chao) erfolgreich abgeschlossen. Die Bestimmungen des Gehaltes an Vitamin C,  $\beta$ -Carotin, Äpfel-, Zitronen-, Fumar-, Wein- und Oxalsäure wurden an 53 Brassicaceen-Bastardformen und 33 Eltern genotypen in Verbindung mit sensorischen Prüfungen durchgeführt. So wurde z.B. nachgewiesen, daß die Gemüseraps-Bastarde einen höheren Vitamin C- und  $\beta$ -Carotin-Gehalt aufweisen als der eingekreuzte Chinakohl. Die Ergebnisse verdeutlichen desweiteren interessante Zusammenhänge zwischen den Fruchtsäuren und den Geschmackseigenschaften des geprüften Pflanzenmaterials. Für Wein-, Äpfel- und Zitronensäure konnte ein positiver und für Oxalsäure ein negativer Einfluß auf den Geschmack nachgewiesen werden. Die Fülle der erhaltenen Daten bildet eine wertvolle Grundlage für die Weiterbearbeitung des untersuchten Bastardmaterials.

Abstract:

Testing on glucosinolates (GSL) and sensoric flavour in order to detect possible correlations between GSL contents and flavour quality have been carried out on interspecific *Brassicaceae* hybrids, parent genotypes, etc. For this purpose, primitive forms of *Brassica oleracea* with highly variable contents of glucosinolates have been screened for lines with a high amount of defined GSL in the total amount (glucobrassicin 72%, sinigrin 50%, progoitrin 50%) as well as with a homogenous GSL composition for sensoric tests. Determination of the contents of vitamine C,  $\beta$ -carotin and fruit acids in correlation with sensoric tests of 53 hybrids and 33 parent genotypes has been finished. Vegetable rape seed lines possess a higher contents of vitamine than chinese cabbage lines used for crossing. Positive effects on flavour could be proven for fruit acids (tartaric acid, malic acid, citric acid) except of oxalic acid (negative effect).

(BAZ-1306)

In Zusammenarbeit mit: Schütze, Hoberg, Ulrich, BAZ, Inst. f. Qualitätsanalytik, Quedlinburg; Chao, Univ. Kiel 160

**1.8. Quantitative Analyse morphologisch komplexer Blattstrukturen zur Charakterisierung von Gemüsearten am Beispiel von *Daucus carota***  
**Quantitative analysis of complex morphological characters of leaf structures for the characterization of vegetable species. *Daucus carota* as a model system**

Ahne, R.; Nothnagel, T.

*Entwicklung einer Methode zur Quantifizierung der Morphologie von Blattformen zur Unterstützung genetischer Analysen bei *Daucus carota*. Einsatz von Bildaufnahme- und Bildverarbeitungsverfahren zur Objekt- und Merkmalsgewinnung einschließlich spezieller Beleuchtungsverfahren.*

*Development of a method for quantification of morphological leaf characters. Application of image processing procedures is necessary for determination of morphological features (e.g. area, form, curvature, branch points). These features shall support the genetic analysis.*

Blattstruktur und Blattaufbau, d.h. die Blattmorphologie, sind wesentliche Merkmale zur Bestimmung und Charakterisierung von Pflanzen. Der visuelle Identifikations- und Erkennungsprozeß soll durch quantitative morphologische Merkmale ersetzt und durch computergestützte Klassifikation objektiviert werden. Mittels Bildaufnahme- und Bildverarbeitungsverfahren wurde ein erster Ansatz zur Quantifizierung der Blattmorphologie in Form von Merkmalen, wie Fläche, Kontur, Formfaktoren, Werte zur partiellen Konkavität bzw. Konvexität, Ferret-Durchmesser sowie Konturcharakteristiken, vorgenommen. Für die Klassifikation wurden zwei Verfahren, der Minimum-Distanz-Algorithmus und der Parallelepipedklassifikator, in die Anwendung einbezogen. Die Realisierung erfolgte auf der Basis des Dialog- und Programmiersystems zur digitalen Bildverarbeitung

DIAS. Die ersten Tests an zwei Wildformen und drei Kreuzungen von *Daucus carota* zeigen, daß eine computergestützte bildanalytische Identifikation möglich ist.

**Abstract:**

Using image recording and processing techniques the subjective identification and differentiation of morphological leaf characters shall be replaced by objective methods. Tests applying some characters could proof that identification by computer-assisted image analysis is possible.

(BAZ-1320)

161

## 2. Erzeugung transgener Pflanzen mit neuen Resistenzen

### Generation of transgenic plants with new resistance traits

#### 2.1. Sekretiertes T4-Lysozym als neuer Resistenzfaktor in transgenen Pflanzen zur Erzeugung einer gentechnischen antibakteriellen Resistenz Secreted T4 lysozyme as a new causative agent for gene technological antibacterial resistance in transgenic plants

Düring, K.; Jahnke, A.; Mahn, A.; Porsch, P.

*Erzeugung einer gentechnischen Resistenz gegen phytopathogene Bakterien durch Expression und Sekretion von T4-Lysozym als unspezifischer Resistenzansatz am Modell der Interaktion Solanum tuberosum - Erwinia carotovora spp.*

*Development of a gene technological resistance to phytopathogenic bacteria by expression and secretion of T4 lysozyme. An unspecific resistance strategy using the model interaction Solanum tuberosum - Erwinia carotovora spp.*

T4-Lysozym wird als Fusionsprotein mit dem Signalpeptid der  $\alpha$ -Amylase aus Gerste in transgenen Pflanzen exprimiert und sekretiert. Dort kann es frühzeitig mit eindringenden phytopathogenen Bakterien interagieren. Durch die bakteriolytischen Eigenschaften des Fremdproteins sollen eine Besiedlung des Pflanzengewebes und die nachfolgende Mazeration unterbunden werden.

Dieses gentechnische Resistenzkonzept wird am Beispiel der Wirt-Pathogen-Interaktion Kartoffel - *Erwinia carotovora* spp. eingehend untersucht. Durch seinen a priori unspezifischen Charakter eignet sich dieser gentechnische Ansatz für eine schnelle Übertragung auf andere Wirt-Pathogen-Systeme.

Mit einer optimierten Vektorkonstruktion hergestellte transgene Linien der Sorte 'Désirée' wurden eingehend charakterisiert. Sie sollen einer Freilandresistenzprüfung nach klassischen Verfahren zugeführt werden. Die Selektion der Linien erfolgte durch Nachweis des Fremdproteins im Western Blot mit anschließender wei-

terer Charakterisierung auf DNA- und RNA-Ebene. Die integrierten Strukturen der T-DNA (chimäres T4-Lysozym-Gen unter der Kontrolle des Blumenkohlmosaikvirus-35S-Promotors und *npt II* - Markergen) wurden im Southern Blot analysiert.

Die ausgewählten transgenen Linien wurden in großen Zahlen (insgesamt ca. 1 000 Pflanzen) ins Gewächshaus überführt, um Pflanzgut für eine Freilandprüfung zu gewinnen. Im Oktober 1995 wurde beim Robert-Koch-Institut ein Antrag auf Freisetzung dieser Linien nach dem Gentechnikgesetz für die Standorte Quedlinburg und Groß Lüsewitz (Versuchsfelder der BAZ) gestellt. Gefördert wird die Vorbereitung des Freilandversuches zusammen mit Begleitforschungsprojekten im Rahmen eines einjährigen BMBF-Vorlaufprojektes. Für die Hauptphase des Projektes wurde ein weiterführender Verbundprojektantrag beim BMBF eingereicht.

Inhalt dieses Verbundprojektes ist im Teilprojekt Quedlinburg die Resistenzprüfung gegenüber *Erwinia carotovora*. Die Verbundprojektpartner untersuchen anhand von hochsensitiven Modellsystemen sowie auf der Ebene von Mikroorganismengemeinschaften die Entlassung von DNA aus Pflanzen und deren Potential zum horizontalen Gentransfer sowie die Lysozymwirkung im Boden (Prof. Wackernagel, Oldenburg), potentielle Einflüsse auf Rhizobien und die Nodulation/Stickstofffixierung (Dr. Broer, Rostock) und den Einfluß auf phytopathogene Mikroorganismen (Dr. Rudolph, Göttingen). Gemeinsam erfolgt eine Charakterisierung der Sensitivität gram-positiver und gram-negativer Bakterienspezies gegenüber Lysozymen.

In einer zweiten Phase der Resistenzforschungsstrategie werden mit Förderung durch BML-Sondermittel modifizierte Genkonstruktionen mit anderen Promotoren für die Anwendung getestet. Es sollen erhöhte Expressionslevels an T4-Lysozym in transgenen Linien erzielt sowie wundungs- und infektionsabhängig induzierbare oder lokal beschränkt exprimierte Promotoren auf ihre Nutzbarkeit für Bakterieninfektionen überprüft werden. Als Voraussetzung war die Erarbeitung eines Repressionssystems für Bakterien zur Klonierung und Transformation notwendig, da unbeabsichtigt in Bakterien exprimiertes T4-Lysozym zum Absterben der Bakterien führen kann. Die erarbeitete Antisense-Strategie hat sich als in der Laborpraxis effizient erwiesen und wird daher für alle weiteren Experimente eingesetzt, um Lysozymkonstrukte mit regulierten Promotoren in Pflanzen transformieren zu können. Solche transgenen Linien befinden sich in der molekularen Charakterisierung.

**Abstract:**

Secreted T4 lysozyme is used as a foreign resistance protein in transgenic potato plants. In the intercellular spaces an early interaction with the invading phytopathogenic bacteria is enabled reducing colonization and disease formation. This strategy is a priori unspecific and can be easily transferred to other host-pathogen-systems. Transgenic lines of the variety 'Désirée' with the foreign gene under constitutive control have been regenerated

and characterized. Greenhouse tubers are produced for planting in the field in 1996. The required field release application has been filed to the respective authorities in October 1995. Funding of this work and risk assessment studies to be performed by other independent labs has been granted by the German Research Ministry for the preparatory phase (one year). The main project has been submitted for subsequent funding.

The second phase of this research programme follows up enhanced and regulated expression of the T4 lysozyme according to the molecular interaction between host and pathogen. This work is funded by the German Agricultural Ministry. A basic adapted technique for transfer of these gene constructs into plants has been elaborated and proven to be applicable for routine. Transgenic plants are under investigation.

Drittmittelprojekte des BML (Sondermittel) (BAZ-1319) und des BMBF (Förderkennzeichen 0311043) (BAZ-1321)

In Zusammenarbeit mit: Wackernagel, Univ. Oldenburg, Fachbereich Biologie/AG Genetik; Broer, Univ. Bielefeld, Lehrstuhl für Genetik; Rudolph, Univ. Göttingen, Inst. f. Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz; Schmidt, K., Fa. Biorat, Rostock

162

## 2.2. Plantibodies: Ein flexibler Ansatz für die Integration neuer Eigenschaften in Pflanzen Plantibodies: A flexible approach to endow plants with new properties

Düring, K.; Winkler, T.

*Erzeugung einer gentechnischen Resistenz gegen Erwinia carotovora in transgenen Kartoffeln durch Expression und Sekretion von vollständigen und einkettigen monoklonalen Antikörpern, die gegen sekretierte pektolytische Enzyme des phytopathogenen Bakteriums gerichtet sind.*

*Development of a genetical resistance to Erwinia carotovora in transgenic potatoes via expression and secretion of full-size and single-chain monoclonal antibodies directed against secreted pectolytic enzymes of the phytopathogenic bacterium.*

Wegen des weitgehenden Fehlens von Resistenzen gegenüber phytopathogenen Bakterien in vielen Kulturpflanzenarten kommt der Gentechnik eine besondere Bedeutung in diesem Bereich zu. Durch gezielte Eingriffe besteht die Möglichkeit, in transgenen Pflanzen die Interaktion zugunsten der Pflanze zu beeinflussen.

Neben dem allgemein und unspezifisch ausgerichteten T4-Lysozym-Ansatz wird als zweite Strategie die Nutzung monoklonaler Antikörper in transgenen Pflanzen untersucht. Monoklonale Antikörper, die gegen sekretierte pektolytische Enzyme von *E. carotovora*, welche in der Interaktion mit der Kartoffel als Pathogenitätsfaktoren fungieren, gerichtet sind, können als deren Inhibitoren in Form von "Plantibodies" auf ihre biologische Wirkung in planta hin überprüft werden.

Im Rahmen eines EU-geförderten Verbundprojektes wurde die Wirksamkeit der Plantibody-Strategie von anderen Labors bereits für zwei Virusresistenzen nachgewiesen. Hier werden im Modellsystem Kartoffel-*E. carotovora* monoklonale Antikörper hergestellt und geprüft, die gegen verschiedene pektolytische Enzyme aus *E. carotovora* inhibierend wirken. Die Generierung der entsprechenden Antikörper erfolgt in enger Zusammenarbeit mit dem Labor für Monoklonale Antikörper in Wageningen/Niederlande (Schots). Die hier hergestellten Antikörper sollen später zur Expression in transgenen Kartoffelpflanzen genutzt werden.

Abstract:

Lack of natural resistance genes towards phytopathogenic bacteria in many crop plants allocates a special emphasis to application of genetechnology for antibacterial resistance breeding. Sophisticated approaches allow a specific modulation of the host-pathogen interaction potentially leading to resistant transgenic plants.

The plantibody approach is followed up in a joined EU project where successful application for achievement of virus resistance has already been demonstrated by others. Secreted pectolytic enzymes of *Erwinia carotovora* are the targets of monoclonal antibodies raised in close collaboration at the Laboratory for Monoclonal Antibodies in Wageningen/The Netherlands. They shall be expressed as specific inhibitors of the pathogenicity factors in transgenic potatoes later.

Drittmittelprojekt der EU (Nr. BIO2-CT92-0239) (BAZ-1318).

In Zusammenarbeit mit: Ehrig, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben; Fischer, Kreuzaler, RWTH Aachen, Inst. f. Biologie I; Schots, Laboratorium voor monoklonale Antistoffen, Wageningen, Niederlande; Benvenuto, ENEA, Rom, Italien; Depicker, Univ. Gent, Laboratorium voor Genetica, Belgien; Abad, INRA, Laboratoire de Biologie des Invertébrés, Frankreich; Stiekema, CPRO-DLO, Wageningen, Niederlande

163

## 2.3. Untersuchungen zur Expression eines unter anaeroben Bedingungen aktiven Promotors in transgenen Kartoffeln während der Interaktion mit Erwinia carotovora

**Analysis of the expression in transgenic potatoes during the interaction with Erwinia carotovora of a promoter activated under anaerobic conditions**  
Düring, K.; Bülow, L.

*Um die Expression fremder Resistenzfaktoren in transgenen Pflanzen zu optimieren, ist für bakterienbedingte Krankheiten eine Induktion der Fremdenexpression unter anaeroben Bedingungen anzustreben, da unter diesen Bedingungen für das Pathogen die höchste Infektionswahrscheinlichkeit besteht.*

*For achievement of optimal expression of foreign resistance factors in transgenic plants anaerobic induction of expression of the foreign gene is required in case of*

*bacterial diseases. Under these conditions the probability of infection is highest.*

Infektionen von Kartoffeln durch das phytopathogene Bakterium *E. carotovora* erfolgen stark bevorzugt unter anaeroben Bedingungen, wobei durch die sich ausbildende bakterielle Schleimschicht ein weiterer Sauerstoffabschluß eintritt. Der höchste Bedarf an *in situ* vorhandenem Resistenzfaktor ist folglich unter sauerstoffarmen Bedingungen zu verzeichnen. Darüberhinaus besitzt die Kartoffel einen sauerstoffabhängigen Resistenzmechanismus gegen *E. carotovora*, der ihr eine geringere Suszeptibilität unter guter Belüftung verleiht. Andererseits werden unter anaeroben Bedingungen nur noch ca. 20 Gene in Pflanzen exprimiert. Alle anderen werden abgeschaltet.

Für eine gentechnische Resistenzstrategie ist der optimale Ansatz demzufolge die Nutzung eines anaerob exprimierten Promotors zur Steuerung des fremden Resistenzgens. Diese Möglichkeit eröffnet sich durch die Bereitstellung eines geeigneten Promotors aus der Arbeitsgruppe Cerff / Hehl an der TU Braunschweig.

In einem gemeinsamen DFG-Projekt wird zunächst die anaerobe Expression in transgenen Kartoffeln verifiziert und später die Nutzung für die Steuerung des fremden T4-Lysozygens überprüft. Mit diesem Promotor wäre es möglich, die Expression des Fremdgens auf anaerobe Bedingungen im Sinne eines Präventivschutzes zu begrenzen.

Die Anwendung dieses Promotors wurde in einer gemeinsamen Patentanmeldung geschützt.

**Abstract:**

Infection of potato by *E. carotovora* generally occurs most efficiently under anaerobic conditions. Therefore, expression of foreign resistance genes in transgenic potato plants for antibacterial resistance ideally should be directed by an anaerobically activated promoter. This has become achievable by provision of a highly suitable promoter by the group of Cerff/Hehl in Braunschweig. Application in transgenic potatoes is studied at the levels of the GUS marker gene and subsequently the T4 lysozyme gene for resistance testing in a joint DFG project with the Braunschweig group.

Drittmittelprojekt der DFG (Kennzeichen DU 205/6-1) (BAZ-1323)

In Zusammenarbeit mit: Hehl, Cerff, TU Braunschweig, Inst. f. Genetik, Biozentrum

164

### 3. Markergestützte Selektion Marker-assisted selection

#### 3.1. Entwicklung molekularer Marker und genetische Charakterisierung von Ausgangsmaterial der Erbse (*Pisum sativum* L.)

**Development of molecular markers and genetic characterization of basic material of pea (*Pisum sativum* L.)**

Budahn, H.; Peterka, H.; Straka, P.

*Ziel des Projektes ist die Entwicklung molekularer Marker (RFLP, RAPD) und die Erstellung einer genetischen Kopplungskarte unter Einbeziehung morphologischer Ankerloci.*

*Aim of the project is the development of molecular markers (RFLP, RAPD) and the generation of a genetic map utilizing morphological anchor loci.*

Molekulare Marker (37 RAPD- und 10 RFLP-Marker) wurden zusammen mit Ankerloci aus der klassischen Karte von *P. sativum* kartiert, um sie in die bekannten Kopplungsgruppen der Erbse einordnen zu können. Für Chromosom 1 wurde *D<co*, für Chromosom 2 *s*, für Chromosom 3 *Td*, für Chromosom 5 *r* und *U<st* sowie für Chromosom 6 *Arg*, *wlo* und *Pl* als bekannte Marker genutzt. Außerdem wurden 4 Isoenzymloci und ein Virusresistenzlocus in die Analyse einbezogen. In einer Kartierungspopulation von 120 F<sub>2</sub>-Individuen wurden die insgesamt 60 spaltenden Loci kartiert. Mittels MAPMAKER wurden 54 Loci auf 13 Kopplungsgruppen verteilt. Sie umspannen eine genetische Länge von 530 cM. Von diesen konnten sechs Kopplungsgruppen den Chromosomen 1, 2, 3, 5 und 6 der Erbse zugeordnet werden.

**Abstract:**

DNA based markers are integrated into known genetic linkage groups of pea for improvement of its genetic map. In an F<sub>2</sub> population 60 polymorphic loci have been mapped.

(BAZ-1303)

In Zusammenarbeit mit: Kühne, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben

165

#### 3.2. Marker-gestützte Selektion auf Virusresistenz bei Gemüseeerbse (*Pisum sativum* L.)

**Marker-assisted selection for virus resistance in pea (*Pisum sativum* L.)**

Budahn, H.; Peterka, H.

*Es sollen molekulare Marker entwickelt werden, mit deren Hilfe die Züchtung virusresistenter Erbsensorten erleichtert und wirksamer gestaltet wird. Dazu werden chromosomenspezifische Gene für morphologische Eigenschaften, PsBMV-Untersuchungen einer spaltenden F<sub>2</sub>-Generation auf Virussympptome und mit ELISA-Verfahren, RAPD- und RFLP-Techniken sowie Compu-*

ter-Programme zur Aufstellung von Kopplungskarten verwendet.

*Molecular markers shall be developed for improvement of breeding of virus-resistant pea varieties. For this aim chromosome specific genes for morphological traits, PSbMV investigation of a segregating F<sub>2</sub> generation for viral symptoms and ELISA, RAPD and RFLP techniques are used as well as computer programmes for construction of linkage maps.*

Ziel des Projekts ist die Erstellung molekularer Marker, die enge Kopplung mit dem Locus *sbm-1* aufweisen. Der Locus *sbm-1* für Resistenz gegen das Pea Seedborne Mosaic Virus (PSbMV) befindet sich in einem Gencluster mit weiteren drei Virusresistenzgenen auf Kopplungsgruppe 6 von *P. sativum*. Die Kartierungspopulation, eine F<sub>2</sub>-Generation der PSbMV-anfälligen Linie 173 und der resistenten Linie 172, umfaßt 110 Einzelpflanzen. Nach Klassifizierung der Resistenzreaktion durch Symptombonitur und ELISA wurde die DNA aller anfälligen bzw. resistenten Einzelpflanzen gemischt (anfälliger bzw. resistenter Bulk) und die Bulk Segregant Analysis (BSA) durchgeführt. Die RAPD-Analyse mit 460 Operon- und 80 Genosys-Dekamerprimern ergab 7 kritische Polymorphismen. Alle 7 RAPD-Marker waren nach der F<sub>2</sub>-Kopplungsanalyse mit 110 Einzelpflanzen tatsächlich mit *sbm-1* auf Chromosom 6 gekoppelt (Abb. 1). Der Abstand zu *sbm-1* betrug zwischen 6,8 und 37,0 cM. Von den 7 Markern liegen 6 auf einer Seite von *sbm-1* (im Intervall *sbm-1* ... *wlo*). Erstmals wurde mit dem RAPD-Marker OPAI 13<sub>780</sub> ein molekularer Marker auf der entgegengesetzten Seite gefunden.

Alle nachgewiesenen Kopplungen zwischen RAPD-Markern und *sbm-1* befanden sich in der Attraktionsphase (das dominante Markerallel war mit dem dominanten Allel für Anfälligkeit gekoppelt). Dies entspricht der Erwartung, daß Kopplung in der Attraktionsphase in der F<sub>2</sub>-Generation durch BSA leichter erkennbar ist als Kopplung in der Repulsionsphase. So ist bei absoluter Kopplung (Rekombinationshäufigkeit  $r = 0$ ) zwischen RAPD-Locus und Resistenzlocus die erwartete Häufigkeit des dominanten Markerallels im DNA-Gemisch des anfälligen und des resistenten Bulks bei Attraktionsphase 67 und 0 %, dagegen bei Repulsionsphase 100 und 33 %. Damit ergibt sich nach PCR in Repulsionsphase selbst bei absoluter Kopplung nur ein quantitativer Unterschied in der Bandenstärke, während bei Kopplung in Attraktionsphase ein qualitativer Unterschied (Bande vorhanden/nicht vorhanden) zwischen den beiden Bulks auftritt. Mit dem RAPD-Marker OPAI 13<sub>780</sub> und dem RFLP-Marker W620 (Arbeitsgruppe Dr. Kühne), der einen genetischen Abstand von nur 3,2 cM zu *sbm-1* aufweist, sind 2 flankierende Marker für das Resistenzgencluster vorhanden. Die 8 molekularen Marker wurden mit 3 Markern der klassischen Kopplungskarte von Chromosom 6, dem Isoenzymmarker *Prx-3*, sowie den morphologischen Markern *Pl* und *wlo*, integriert. Damit umfaßt die vorhandene Karte von Kopplungsgruppe 6 insgesamt 12 Loci und hat eine genetische Länge von 70,2 cM.

Die ELISA-Extinktionswerte der F<sub>2</sub>-Pflanzen wurden zusätzlich als quantitatives Merkmal für eine QTL-Analyse von *sbm-1* mit dem Programm MAPMAKER-QTL genutzt. Wie erwartet ergab die Analyse einen QTL im Intervall zwischen W620 und OPAI 13<sub>780</sub>. Allerdings wurden durch ihn nur etwa 60 % der genetischen Varianz erklärt (Abb. 1).

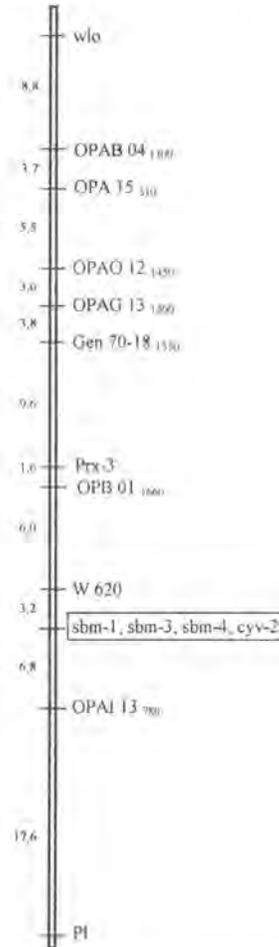


Abb.1: Kartierung des Virusresistenzlocus *sbm-1* auf Chromosom 6 von *Pisum sativum* mittels morphologischer (*wlo*, *Pl*), Isoenzym- (*Prx-3*), RFLP- (*W 620*) und RAPD-Marker

#### Abstract:

For the development of markers closely linked to the gene for resistance to Pea Seedborne Mosaic Virus (PSbMV) the RAPD-PCR technique is used. Analysis of a large number of decamer primers allowed identification of 7 closely linked RAPD markers. For the first time, a marker located on the side of the *sbm-1* gene which has not been marked until now was detected. Together with an RFLP marker of the group of Dr. Kühne (BAZ-Aschersleben) two closely linked flanking markers are available for further investigations.

(BAZ-1310)

In Zusammenarbeit mit: Kühne, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben

#### 4. Computergestützte und molekulare Chromosomenanalyse Computer-aided and molecular analysis of chromosomes

##### 4.1. Analyse biologischer Objekte am Beispiel der Charakterisierung sehr kleiner Gemüsechromosomen mittels Methoden der Bildverarbeitung in Kombination mit neuen mikroskopischen Verfahren

Analysis of biological material via image processing methods in combination with new microscopic techniques for the characterization of very short chromosomes of vegetables

Ahne, R.; Schrader, O.; Haas, H. U.

*Entwicklung einer Methode zur bildanalytischen Erfassung und Darstellung kleiner Pflanzenchromosomen für die Identifikation und Klassifikation bei der computergestützten Erarbeitung von Karyogrammen. Einsatz von interaktiven Bildverarbeitungsverfahren in Zusammenarbeit mit modernsten Mikroskopieverfahren.*

*Development of a method for record and presentation of very short chromosomes of vegetables via computer-aided analysis. Application of interactive image processing in combination with modern techniques in light microscopy.*

Aufgrund der sehr geringen geometrischen Abmessungen der Gemüsechromosomen von *Daucus* ssp., *Brassica* ssp. und *Sinapis* ssp. in der Größenordnung von 1 bis 3 µm werden hinsichtlich der mikroskopischen Gerätetechnik höchste Anforderungen gestellt. Die methodische Entwicklung wurde unter Einbeziehung neuester Präparations- und Färbefahren kontinuierlich fortgesetzt. Im Laufe des Berichtsjahres wurde die gerätetechnische Basis zur Fluoreszenzmikroskopie einschließlich der Erweiterung der Bildeingabe durch eine Restlicht-TV-Kamera geschaffen. Mit dem nun vorhandenen speziellen Gerätekomplex (inverses Mikroskop, Fluoreszenzerweiterung sowie Restlicht-TV-Kamera) kann erstmals in der BAZ quantitative Fluoreszenzmikroskopie bei sehr kleinen Gemüsechromosomen durchgeführt werden. Die jetzt auch vorhandene doppelte geometrische Auflösung bis in den Subpixelbereich wird sich besonders bei der Merkmalsgewinnung und Erhöhung der Sicherheit der Identifikation der Chromosomen auswirken. Dadurch läßt sich das Analysespektrum auf die Visualisierung und Identifizierung der chromosomalen In-situ-Hybridisierung ausdehnen. Erste Untersuchungen bei *Brassica* ssp. und *Daucus* ssp. bestätigten den Sachverhalt.

Die 1994 entwickelte Variante der computergestützten Chromosomenanalyse für interaktive Längenmessungen von sehr kleinen *Vitis*-Chromosomen wurde weiterentwickelt und in der zytogenetischen Routine eingesetzt. Auf der Basis der damit gewonnenen Daten konnten erstmals entsprechende Karyogramme bei *Vitis* ssp. erarbeitet werden.

Abstract:

Technical upgrading for the first time provided the equipment necessary for quantitative fluorescence microscopy at very short vegetable chromosomes. The increase in geometric resolution allows a more reproducible identification of the chromosomes, especially for signals from in situ hybridization. First results were obtained with cabbage, carrot, and vine grape.

(BAZ-1301)

167

##### 4.2. Verfahrensentwicklungen zur Charakterisierung kleinchromosomiger Gemüse-Karyotypen Methods for characterization of short chromosomal karyotypes of vegetables

Schrader, O.; Ahne, R.

*Charakterisierung kleinchromosomiger Gemüsekaryotypen nach Entwicklung geeigneter Techniken zur Präparation, differentiellen Färbung und rechnergestützten Bildverarbeitung. Methodischer Ansatz: Entwicklung von Anzuchtverfahren und Präparationsmethoden, die eine maximale Ausbeute von optimal kontrahierten Metaphasechromosomen gestatten; Einsatz neuer hochauflösender Mikroskop- und Bildverarbeitungstechniken.*

*Characterization of short chromosomal vegetable karyotypes using newly developed techniques for preparation, differential staining and computer-aided image processing. Methods: Development of growth protocols and sample preparation methods with maximal yield of optimally contracted metaphase chromosomes; Application of new high resolution microscopy and image processing techniques.*

Die Fortführung vorjähriger erfolgreicher methodischer Ansätze zur Anwendung der HKG-Technik bei *Daucus carota* ergab, daß die einem Kondensationsmuster entsprechenden Giemsa-Banden im interkalaren chromosomalen Bereich nicht sicher reproduziert werden konnten und damit ähnliche Gegebenheiten wie beim Orcein-Banding (vergl. Jahresber. 1993) vorlagen. Demgegenüber war die C-Banding-Methode zur Markierung zentromernahen Heterochromatins bei *Daucus* stabil und für Karyotypanalysen mit der rechnergestützten Bildverarbeitung geeignet. Für *D. carota* konnte auf der Basis von 35 ausgewerteten Karyotypen ein Standard entwickelt werden, der im wesentlichen mit dem im Vorjahresbericht gezeigten Idiogramm identisch ist. Entsprechende Karyotypanalysen an der Wildform *D. littoralis* (2n=20) ergaben, daß das zusätzliche Chromosomenpaar im mittleren Bereich der submetazentrischen Gruppe des *Daucus*-Standards einzuordnen ist. *D. littoralis* verfügt somit über 6 submetazentrische (einschließlich SAT-Chromosom) und 4 metazentrische Chromosomenpaare, die durchschnittlich 1,5 µm länger als bei *D. carota* in Metaphasen vergleichbaren Kontraktionsgrades waren. Bei *Brassica oleracea* wurden an keimenden Samen Synchronisationsversuche mit Hydroxyharnstoff durchgeführt, die eine Erhöhung des Metaphaseindex auf maximal 20% gegenüber 1,3% in unbehandelten Kontrollen

erreichten. Auch an maximal kontrahierten Metaphase-Chromosomen (1,6...2,6  $\mu\text{m}$  lang) konnten die homologen Chromosomenpaare nach Homogenfärbung bildanalytisch klassifiziert bzw. vermessen werden. In Anwendung dieser karyotypanalytischen Ergebnisse bei Kohl wurde mit der chromosomalen Charakterisierung sinapisplasmatischer Gemüsekohllinien begonnen (vergl. BAZ-1308). An einer 19-chromosomigen Pflanze konnte das vermutlich von *Sinapis alba* stammende Fremdchromosom im homogengefärbten Karyotyp charakterisiert werden (Abb. 1).

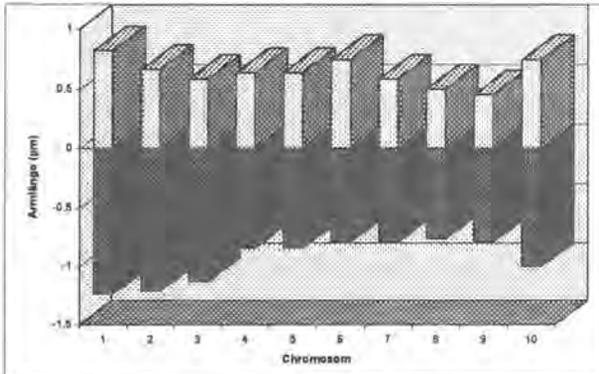


Abb. 1: Kurzer (hell) und langer (dunkel) Chromosomenarm von *Brassica oleracea* (1 bis 9) mit einem Fremdchromosom von *Sinapis alba* (10)

#### Abstract:

Banding techniques have been applied successfully for detection of heterochromatin close to the centromer. The suitability for karyotype analysis via computer-aided image processing could be proven. Using 35 ideal karyotypes a standard for *Daucus carota* could be developed. Differences in the chromosomes could be detected between *D. littoralis* and *D. carota*. Methodological progress was achieved in *Brassica oleracea*. Furthermore, addition of foreign chromosomes from *Sinapis alba* in hybrids has been proved.

(BAZ-1313)

In Zusammenarbeit mit: Fuchs, J. IPK, Gatersleben 168

#### 4.3. Versuche zur Entwicklung eines Satzes von Trisomen der Kulturmöhre (*Daucus carota* L.) Development of a set of trisomes of cultivated carrot (*Daucus carota* L.)

Schrader, O.; Ahne, R.; Straka, P.; Nothnagel, T.

Herstellung eines Satzes der 9 möglichen unterschiedlichen Trisomen der Kulturmöhre (Sorte 'Lange Rote Stumpfe'). Chromosomenspezifische Lokalisation von Markern und züchterisch wichtigen Merkmalen an cyto-genetisch ermittelten, kritischen Trisomen. Methodischer Ansatz: Valenzkreuzung (diploid x tetraploid) und Rückkreuzung mit der diploiden Form; Selektion der 9 möglichen Trisomen anhand cytogenetischer Merkmale (Karyotypanalyse) sowie mit Hilfe morphologischer, biochemischer und molekularer Marker.

Development of a set of the 9 possible different trisomics of cultivated carrot (cv. "Lange Rote Stumpfe"). Chromosome specific localization of markers and agronomically important traits using cytogenetically determined critical trisomics. Methods: valence crosses (diploid x tetraploid) and backcrosses with diploid line; selection of the 9 possible trisomics using cytogenetic traits (karyotype analysis) and morphological, biochemical and molecular markers.

In 2 Rückkreuzungspopulationen ( $BC_2$ ) triploider  $BC_1$ -Pflanzen ( $2n=3x=27$ ), gekreuzt mit *D. carota sativus* ( $2x$ ), konnten in der Population A 63/94 mit 31 Einzelpflanzen bisher 21 untersucht werden, wovon 5 Pflanzen den trisomen Status von  $2n=19$  aufwiesen. In der Population A 66/95 mit 50 Einzelpflanzen wurden bisher von 19 untersuchten Pflanzen 3 mit  $2n=19$  und 1 mit  $2n=20$  bestimmt. Die karyotyp- bzw. meioseanalytische Charakterisierung des trisomen Chromosomentyps wird sinnvollerweise erst in den Nachkommenschaften umfangreicher analysiert. Bisherige Analysen zeigten, daß zusätzliche (trisome) Chromosomen sowohl in der meta- als auch in der submetazentrischen Karyotypgruppe vorkommen. Zur sicheren Erhaltung der aufgefundenen trisomen Linien wurden in vitro-Verklonungen vorgenommen. Eine Rückkreuzungspopulation der Kombination [*D. c. gadacaei* x *D. carota* ( $4x$ )] x *D. carota* ( $2x$ ) zeigte neben ausschließlich 18-chromosomigen Pflanzen auch zwei 17-chromosomige Typen, die sich im bisher sichtbaren vegetativen Stadium von den euploiden Formen nicht unterschieden. Zur Erweiterung der Selektionsbasis von trisomen Kulturmöhren in aneuploiden Populationen wurden erneut Valenzkreuzungen (tetraploid x diploid) durchgeführt. Außerdem erfolgten weitere Valenzkreuzungen von tetraploider Kulturmöhre mit den diploiden Wildformen ( $2n=18$ ) *D. c. gadacaei* und *D. c. gummifer* mit dem Ziel der Herstellung von Additionslinien von Wildchromosomen an das Genom der Kulturmöhre.

#### Abstract:

In 2  $BC_2$  backcross populations of carrot 5 and 3, respectively, trisomic plants with  $2n=19$  and 1 with  $2n=20$  could be detected. Detailed analyses of karyotype and meiosis can only be performed in progenies of aneuploid plants. All trisomic plants have been transferred to in vitro culture. Valence crosses of the combination tetraploid x diploid have been carried out for further selection of trisomic genotypes of carrot and of additions of foreign chromosomes from the wild species ( $2n=18$ ) *D. c. gummifer* and *D. c. gadaceaei*.

(BAZ-1314)

169

#### 4.4. Versuche zur Übertragung einzelner definierter Chromosomen aus Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) in die Sonnenblume

##### Transfer of single defined chromosomes from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) into sunflower

Schrader, O.

*Cytogenetische Charakterisierung der vorhandenen Helianthus-Arthastarde in Mitose und Meiose. Cytogenetischer Nachweis der Übertragung von Chromosomen bzw. Chromosomensegmenten aus der Wildform in die Kultursonnenblume. Methodischer Ansatz: Durch wiederholte Rückkreuzung der Bastarde mit der Kultursonnenblume sollen verschiedene monosome Fremdchromosomen-Additionen erhalten werden. Anwendung von Methoden der differentiellen Chromosomenfärbung in Verbindung mit der rechnergestützten Bildanalyse.*

*Cytogenetic characterization of interspecific hybrids of Helianthus in mitosis and meiosis. Cytogenetic determination of the transfer of chromosomes or segments of chromosomes from the wild species into cultivated sunflower. Cytogenetic proof of addition of single Topinambur chromosomes to the genome of the cultivar. Methods: Repeated backcrosses of hybrid material with sunflower for generation of monosomic addition lines; application of differential chromosome painting and computer-aided image processing techniques.*

Von 20 im Jahr 1994 bestimmten BC<sub>2</sub>-Pflanzen mit 2n=35 Chromosomen wurden Nachkommenchaften von 1296 BC<sub>3</sub>-Pflanzen hinsichtlich der Transmission des zusätzlichen, voraussichtlich von Topinambur stammenden, Chromosoms untersucht. Die mittlere Transmissionsrate über alle 20 BC<sub>3</sub>-Populationen hinweg betrug 13,7 % (194 Pflanzen mit 2n=35). Vierzehn Populationen mit mehr als fünf 35-chromosomigen Pflanzen gingen zur Resistenzprüfung gegen *Sclerotinia sclerotiorum* nach Giessen (Prof. Friedt). Alle infizierten Pflanzen wurden durch den starken künstlichen Infektionsdruck (Stengelinfektion mit Wattebausch im Folienzelt) geschädigt, wobei von jeder Linie mindestens eine Pflanze noch zur Samenreife kam. Von jeder BC<sub>3</sub>-Population wurden durch Selbstung an mindestens einer Pflanze die Linienerhaltung in Quedlinburg fortgesetzt. Weitere Resistenztestungen gegen Mehltau, *Plasmopara halstedii*, werden zur Zeit vorbereitet. In einer 35-chromosomigen Linie wurde neben dem zusätzlichen Chromosom ein weiteres extrem kleines Chromosom nachgewiesen (Abb. 1). Größe und Morphologie dieses Chromosoms entsprechen der eines B-

Chromosoms, welches in der Gattung *Helianthus* noch nicht beschrieben wurde. Aufklärung der möglichen Herkunft dieses accessorischen Chromosoms sollen laufende Arbeiten zur genomischen *in situ*-Hybridisierung und zur Meiose der Nachkommenschaft bringen. Karyotypanalysen der insgesamt 16 BC<sub>3</sub>F<sub>1</sub>-Populationen werden gegenwärtig zur Charakterisierung der zusätzlichen Chromosomen nach Homogenfärbung vorgenommen. Durch Silbernitrat-Färbung nachgewiesene zusätzliche Nukleoli zeigten in 2 Populationen, daß auch von *H. tuberosus* stammende NOR-tragende Chromosomen in den Additionslinien integriert sind. Versuche zum C-Banding bei *H. annuus* waren erfolgreich. Das zentromerische Heterochromatin konnte bei allen 17 Chromosomenpaaren markiert werden. Mittels Fluoreszenz-*in situ*-Hybridisierungen von rDNA-Proben mit dem Karyotyp des 68-chromosomigen F<sub>1</sub>-Bastards konnten 12 NOR-Regionen nachgewiesen werden, was den von *H. annuus* (3 SAT-Chromosomenpaare) ausgehenden Erwartungen entspricht. Versuche, DNA-Methylierungsmuster heterochromatischer Bereiche in Chromosomen von *H. annuus* mittels Fluoreszenzfärbung nach Koppelung mit monoklonalen Antikörpern sichtbar zu machen, zeigten, daß in Giemsa-bandierte heterochromatischen Bereichen der HKG-Technik (vergl. Jahresber. 1993) eine Korrelation mit Fluoreszenzbanden vorhanden war. Weitere Untersuchungen sollen klären, ob diese Immunfluoreszenz-Technik stabilere Bandenmuster ausprägen kann, als es mit der HKG-Technik zur Zeit möglich ist.

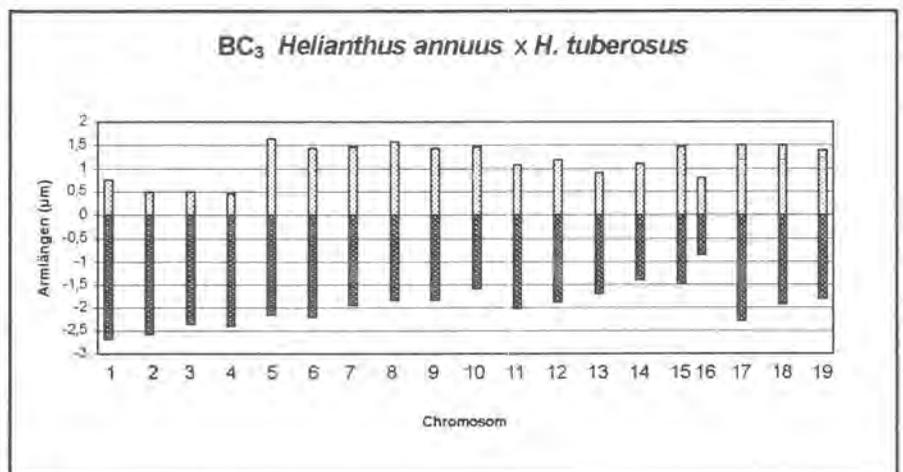


Abb. 1: Kürzer (hell) und langer (dunkel) Chromosomenarm von 17 Chromosomenpaaren (1...14 und 17...19) sowie zwei Fremdchromosomen (15 und 16) von *H. tuberosus*

##### Abstract:

Backcross populations have been analyzed for the inheritance of additional chromosomes originating from *Helianthus tuberosus* in plants with 2n=35. Resistance assessments have been carried out for *Sclerotinia sclerotiorum* in the laboratory. All plants have been damaged. Further cytogenetic analyses revealed in addition to the foreign chromosome a further very small one in an addition line (2n=35). This could be a B-chromosome which so far has not been described in *Helianthus*. Further

characterization was performed using banding and in situ hybridization techniques.

(Drittmittelprojekt der GFP) (ÖE 84/93 PV) (BAZ-1317)  
In Zusammenarbeit mit: Friedt, Univ. Giessen; Fuchs, J.,  
Houben, IPK, Gatersleben

170

## 5. Erarbeitung alternativer Nutzungskonzepte für Kulturpflanzenarten Development of new applications for crop plant species

### 5.1. Untersuchungen zum Morphingehalt bei Mohn (*Papaver somniferum* L.) als Grundlage für die Entwicklung morphinarmer/morphinfreier Mohnformen

**Investigations of the morphine contents of *Papaver somniferum* L. as a basis for development of low-morphine or morphine-free types of poppy**  
Straka, P.; Nothnagel, T.

*Ziel des Forschungsvorhabens ist es, auf der Grundlage erarbeiteter Kenntnisse der Vererbung des Morphingehaltes charakterisierte morphinarmer/morphinfreie Formen von *Papaver somniferum* L. zu entwickeln und damit die Voraussetzung zur Nutzung des Schlafmohns zur Produktion nachwachsender Rohstoffe zu schaffen.*

*Aim of the project is the development of characterized low-morphine or morphine-free forms of *Papaver somniferum* L. on the basis of the knowledge on transmission of the morphine contents. This will allow use of poppy for production of renewable raw materials.*

Der Schlafmohn, *P. somniferum* L., ist in letzter Zeit als Kulturpflanze für Deutschlands Landwirtschaft wieder interessant geworden. Bis 1992 wurde Mohn noch vorrangig zur Erzeugung von Backmohn auf den traditionellen Anbauflächen in den neuen Bundesländern angebaut. Diese Flächen beliefen sich auf ca. 7 000 ha. Derzeit ist der Anbau von *P. somniferum* jedoch wegen des möglichen Drogenmißbrauchs verboten. Die Festlegung des Maximalgehaltes an Morphin (0,01%) in anbaufähigen Mohnsorten durch das Bundesgesundheitsamt ist erste Voraussetzung für den weiteren Anbau von Back- bzw. Ölmohn in Deutschland.

Die Arbeiten zur Entwicklung morphinarmer Mohnformen umfaßten die Analyse und Selektion von Formen mit niedrigem Morphingehalt innerhalb der Art *P. somniferum*.

Die Analyse erfolgte im Inst. f. Qualitätsanalytik der BAZ-in Anlehnung an eine Methode, die von JEGER und Mitarb. (1992) für den Nachweis von Morphin in gerichtsmedizinischen Untersuchungen entwickelt wurde.

Zur Erfassung der genetischen Variabilität wurden 22 verschiedene Sorten und Linien untersucht. Die Analysen bestätigten die bekannte Morphinarmut der aus einer Mutante entwickelten Sorte 'Soma'. Für diese Sorte ist

eine monogen rezessive Vererbung des Merkmals „Morphinarmut“ nachgewiesen. Das geprüfte Sorten- und Linienmaterial wies eine breite Variabilität auf. Parallele Untersuchungen ergaben keine Unterschiede zwischen Gewächshaus- und Freilandanbau.

Neben der Sorte 'Soma' konnten in den Sorten 'Riesenmohn', 'Quedlinburger' und 'Przenko' Einzelpflanzen nachgewiesen werden, die einen Morphingehalt von unter 0,01% in der trockenen Kapsel aufwiesen. Nachkommenschaften dieser Pflanzen zeigten eine Aufspaltung, wobei in vier der untersuchten acht Einzelpflanzennachkommenschaften (EPN) wiederum morphinarmer Pflanzen auftraten. Besonders interessant ist die Sorte 'Przenko', die einen insgesamt niedrigen Morphingehalt zeigt. Die analysierten Umfänge der EPN erlauben noch keine gesicherten Aussagen zur Vererbung. Sie lassen aber den Schluß zu, daß die Morphinarmut genetisch anders bedingt sein muß als dies bei 'Soma' der Fall ist.

Abstract:

The morphine contents of 22 different varieties of *Papaver somniferum* L. were analyzed for low-morphine forms. Apart from the known low-morphine variety 'Soma' single plants with a contents of morphine lower than 0,01% in the dry capsul were found in the varieties 'Riesenmohn', 'Quedlinburger' and in the polish variety 'Przenko'. The segregation of morphine contents in the single plant progenies demonstrated the difference to the monogenic recessive inheritance of the low morphine contents in 'Soma'.

A rapid HPTLC-scanning method has been developed for quantitative determination of morphine in dry poppy capsules. Different accessions of *P. somniferum* are screened to detect low-morphine forms with a maximum of 0,01% morphine in dry capsules. After combination of morphine-rich and low-morphine forms a screening programme of progenies will be accomplished to investigate genetics of morphine.

(BAZ-1316)

Zusammenarbeit mit: Schütze, BAZ, Inst. f. Qualitätsanalytik, Quedlinburg

171

### 5.2. Synthese von einkettigen Antikörpern in transgenen Kartoffelknollen

**Synthesis of single chain - antibodies in transgenic potato tubers**

Düring, K.

*Expression von einkettigen Antikörpern in transgenen Kartoffelknollen für das Biofarming.*

*Expression of single-chain antibodies in transgenic potato tubers for biofarming.*

Die Kartoffelknolle (*Solanum* sp.) bietet sich für das Biofarming neben Samen von vielerlei Pflanzenarten als ein prädestiniertes Organ zur Überproduktion von fremden Proteinen oder daraus resultierenden Reaktionsprodukten an. In einem gemeinsamen Drittmittelprojekt zwischen der Arbeitsgruppe Phytoantikörper (Dr. Con-

rad) des IPK Gatersleben und dem Institut für Züchtungsmethodik für Gemüse der BAZ wird mit Finanzierung durch das Land Sachsen-Anhalt die Synthese von einkettigen Antikörpern in transgenen Kartoffelknollen zu Biofarming-Zwecken untersucht.

In der Arbeitsgruppe Phytoantikörper des IPK sind bereits Genkonstruktionen für einen einkettigen Modellantikörper erfolgreich zu hoher Expression in Tabaksamen gebracht worden. In diesem gemeinsamen Forschungsansatz wird alternativ die Kartoffelknolle als Speicherorgan auf ihre Eignung getestet. Systematisch variierte Genkonstruktionen werden zur Detektion der optimalen Expressionsform für einkettige Antikörper in transgenen Kartoffelknollen eingesetzt. Außerdem werden geeignete Aufreinigungsverfahren eingesetzt und auf ihre Anwendbarkeit in der Praxis hin überprüft.

**Abstract:**

Biofarming needs suitable locations of the foreign gene product in the transgenic plant which allows efficient expression on the one hand and easy technical handling for purification in practice on the other hand. Seeds of many plant species seem to be applicable as well as tubers of transgenic potatoes. In a joint approach with the IPK Gatersleben funded by the county of Sachsen-Anhalt, the optimization of expression of single chain antibodies in transgenic potato tubers is examined. In addition, several affinity based purification methods are evaluated for application in that system. Systematically modified gene constructs are used for assessing the optimal procedure for production and purification of single chain antibodies in potato tubers.

Drittmittelprojekt des Landes Sachsen-Anhalt (Förderkennzeichen 1776B/0084) (BAZ-1322)

In Zusammenarbeit mit: Conrad, IPK, Gatersleben  
172

## Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof

### Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof

Sieboldingen

Die Forschungsschwerpunkte des Institutes für Rebenzüchtung Geilweilerhof konzentrieren sich auf:

- die Entwicklung von krankheitsresistenten Keltertraubensorten unter Beachtung der Sortenvielfalt des deutschen Weinbaues;
- die Erarbeitung von Selektionsmethoden zur Feststellung der wertbestimmenden Eigenschaften, wie Resistenz gegen Schaderreger, Toleranz gegen Streßfaktoren, sowie der Aroma- und Geschmacksstoffe des Mostes und Weines;
- die Analyse der qualitätsbestimmenden Inhaltsstoffe von Obst, Gemüse, Heil- und Gewürzpflanzen;
- die Sammlung, Erhaltung und Evaluierung der genetischen Ressourcen der Rebe.

Im Rahmen der Agrardokumentation und -information hat das Institut die Aufgabe, die wissenschaftliche Literatur der Weinbauforschung zu erfassen und auszuwerten.

Erklärtes Ziel des Institutes ist die Aufgabe, die Züchtungsforschung an Reben weiterzuentwickeln und Reben mit hoher Resistenz gegen Schaderreger, hoher Toleranz gegen abiotische Streßfaktoren und hoher Weinqualität herzustellen.

The institute's research concentrates on the development of:

- development of disease-resistant wine varieties, especially under consideration of the wide diversity of varieties in German viticulture
- selection methods to assess characteristics such as resistance to noxious agents, tolerance to stress factors, and the flavour and taste-determinant aroma components;
- analysis of quality determining compounds of fruit, vegetable, medicinal and spice plants;
- maintaining valuable germplasm of *Vitis*.

Viticulture and Enology Abstracts, supplement to the journal „Vitis - Berichte über Rebenforschung“ is published by this institute, providing abstracts on grape and grapevine science from scientific literature published throughout the world.

## 1. Resistenzforschung

### Research on resistance of grapevines

#### 1.1. Selektion *Botrytis*-resistenter Sorten und Zell-Linien durch Einsatz toxischer Pilzprodukte

#### Selection of varieties and cell lines resistant to *Botrytis* by means of toxic fungal components

Bachmann, O.

*Der Grauschimmelpilz der Weinrebe, Botrytis cinerea, produziert ein Gemisch von Substanzen (hochmolekulare Heteropolysaccharide und niedermolekulare Sesquiterpenaldehyde), welche die Wirtspflanze als Toxine schädigen. Die Komponenten dieses Toxingemisches werden aus Kulturmedien des Pilzes isoliert. Sie können dann in Protoplastenkulturen der Weinrebe auf ihre biologische Wirkung untersucht werden. Ziel dieser Arbeiten ist u. a. ihre Verwendung als Selektionsmittel zur Auslese grauschimmelresistenter Protoplastenregenerate.*

*Botrytis cinerea is the causative agent of grey mold in grapevine. This fungus produces a complex mixture of compounds exhibiting phytotoxic effects. The compo-*

*nents constituting the phytotoxin (heteropolysaccharides high in molecular weight, and sesquiterpene aldehydes low in molecular weight) are purified from media where the fungus had been growing. The purified substances are employed in bioassays using protoplast cultures of grapevine. This project aims at the use of the phytotoxic compounds for direct selection of regenerants of Vitis protoplasts resistant to grey mould.*

*Botrytis cinerea* - der Grauschimmel - gehört zu den weltweit wesentlichsten Schadpilzen und erfordert den Einsatz chemischer Pflanzenschutzmaßnahmen. Aus Gründen des Umweltschutzes und wegen des Auftretens fungizidresistenter Pilze ist eine Reduktion des chemischen Pflanzenschutzes dringend erforderlich. Pflanzeigene Abwehrmechanismen, z. B. die Fähigkeit der Phytoalexinbildung, geben zwar einen partiellen Schutz, der jedoch durch weitere Verfahren verbessert werden muß. Das aus Flüssigkulturen von *B. cinerea* isolierte phytotoxische Heteropolysaccharid BT (*Botrytis* Toxin) wurde von einer Arbeitsgruppe der Univ. Hohenheim als Selektionsmittel in Protoplastenkulturen von Reben eingesetzt. Aus überlebenden, mit BT behandelten, Proto-

plasten werden derzeit Pflanzen regeneriert. In weiteren Untersuchungen soll deren Resistenzgrad gegenüber *B. cinerea* ermittelt werden.

**Abstract:**

*Vitis* protoplasts are treated with BT and surviving protoplasts are regenerating to whole plants by a research group at Hohenheim university. Further tests will show if there is a lower susceptibility for grey mould in regenerated plants.

(BAZ-5113)

In Zusammenarbeit mit: Bleich, Lehrstuhl f. Weinbau, Univ. Hohenheim

173

**1.2. Untersuchungen der Wirt-Parasit-Interaktion zwischen *Agrobacterium* sp. und *Vitis* sp.**

**Investigation on the host-pathogen interaction between *Agrobacterium* sp. and *Vitis* sp.**

Zyprian, E.; Ehemann, A.

Einige Rebsorten wurden mit verschiedenen *Agrobacterium*-Stämmen experimentell infiziert. Unter diesen Bedingungen ist einzig die ungarische Rebsorte 'Kunbarat' gegen 6 getestete Stämme resistent. Nach Infektion an In-vitro-Material entwickeln sich keine Tumoren. Versuche mit genetisch modifizierten *Agrobacterium*-Stämmen lassen folgern, daß T-DNA-Transfer dennoch auch bei 'Kunbarat' stattfindet. Es werden mit verschiedenen molekularen Analysemethoden, wie *vir*-Induktionsstudien mit Hilfe eines speziellen Reportersystems, PCR-Methoden zum Nachweis der Kopienzahl der T-DNA und der Aktivität der übertragenen T-DNA-Gene, die Ursachen dieser Tumorsuppression untersucht.

Grapevine cvs. were test-inoculated with *Agrobacterium* of different biovars. Only the Hungarian cultivar 'Kunbarat' is resistant to 6 different *Agrobacterium* strains under the experimental conditions. Infection of in vitro material does not lead to tumor development. Experiments using genetically modified *Agrobacterium* isolates, however, demonstrate that T-DNA transfer seems to take place. Various molecular methods are currently used to study this mechanism of tumor suppression. These include the investigations of *vir*-induction with a special reporter system as well as PCR-based techniques.

Die Untersuchungen der Wechselwirkung zwischen Wirt und Pathogen in diesem System haben das Ziel, die bei der Rebsorte 'Kunbarat' beobachtete natürliche „Resistenz“ oder verminderte Anfälligkeit gegen acht verschiedene Stämme von *Agrobacterium* aufzuklären. In den ersten Phasen der Infektion von Pflanzen werden bei der Maukekrankheit (crown gall) die Virulenzfunktionen (*vir*) auf dem bakteriellen Ti-Plasmid nach Perzeption von Signalen der verwundeten Pflanze aktiviert. Die Virulenzfunktionen führen dann zu einem Transfer eines Teils des Ti-Plasmids, der T-DNA, in das pflanzliche Genom. Die T-DNA codiert u. a. für Phytohormonsynthese, deren Expression in der Pflanze zu tumorartigen

Wucherungen führt. Eine mögliche Ursache für die verminderte Anfälligkeit oder Resistenz der Rebsorte 'Kunbarat', die sich im Ausbleiben der Tumorbildung trotz T-DNA Transfers (s. Jahresbericht 1994) äußert, könnte eine verringerte oder ausbleibende *vir*-Induktion sein. Um diese Möglichkeit zu untersuchen, wurde das *vir*-Induktions-Testplasmid pSM243cd (MACHIDA *et al.*, 1986; Mol. Gen. Genet. 204, 374-382) durch Konjugation in verschiedene Wildtypstämme von *Agrobacterium* eingeführt. Dieses Plasmid verfügt über ein  $\beta$ -Galactosidasegen (*lacZ*) unter Kontrolle des induzierbaren *virB*-Promotors. Einige der verwendeten Stämme zeigten hohe endogene  $\beta$ -Galactosidase-Aktivität, so daß dieses Testsystem hier nicht verwendbar war. Der Stamm A281 (*Biovar* I) jedoch erwies sich in Vorversuchen mit dem bekannten *vir*-Induktor Acetosyringon als gut geeignet, er zeigte niedrige basale  $\beta$ -Gal Aktivität, die durch Acetosyringon (100  $\mu$ M) um das 11-fache induziert wurde. Mit dem *Agrobacterium*-Stamm A281 pSM243cd wurden in Folge verschiedene Pflanzenextrakte aus den Mauke-anfälligen Rebsorten 'Riesling', 'Vidal blanc', 'Gloire de Montpellier' und der resistenten 'Kunbarat' auf *vir*-Induktorvermögen getestet. Signifikante Unterschiede konnten zwischen den Extrakten aus den oben genannten Rebsorten nicht nachgewiesen werden. Daraus folgt, daß eine verringerte *vir*-Induktion durch 'Kunbarat' als Grund für die verminderte Anfälligkeit dieser Rebsorte wahrscheinlich keine Rolle spielt. Zur Zeit werden Versuche unternommen, um durch Inverse PCR die T-DNA Kopienzahlen in infizierten Internodien der vier Rebsorten früh nach Infektion (3 und 15 Tage) vergleichen zu können. Diese Untersuchungen sollen darüber Aufschluß geben, ob eventuell ein verringerter T-DNA-Transfer oder eine nur transiente Expression der T-DNA-Gene für das Ausbleiben der Tumorbildung bei 'Kunbarat' verantwortlich sind.

**Abstract:**

The understanding of the resistance mechanism of the grapevine variety 'Kunbarat' to *Agrobacterium* induced tumorigenesis (crown gall) can help to prevent the disease and create basic knowledge helpful in biotechnological applications. In order to investigate possibly reduced *vir* gene inducers in 'Kunbarat', we tested plant extracts with the *vir* induction test plasmid pSM243cd (MACHIDA *et al.*, 1986, Mol. Gen. Genet. 204, 374-382) in *Agrobacterium* strain A 281. No significant differences were observed in *virB* induction in response to extracts from the resistant and susceptible grapevine varieties. Hence, reduced *vir* inductor activity is probably not the cause of resistance. From prior experiments we concluded that T-DNA transfer does take place even in the resistant 'Kunbarat' grapevines. However, the number of copies or their stable integration might be reduced, possibly explaining the lack of tumorigenesis observed. To approach this question we started to establish inverse PCR techniques to check for stable integration of T-DNA and copy numbers.

(BAZ-5127)

In Zusammenarbeit mit: Res. Inst. for Viticulture and Enology, Szegedi, P.O. Box 25, H-6000 Kecskemet, Ungarn

174

**1.3. Identifizierung von Rebsorten mit morphologischen Merkmalen und molekularen Markern**  
**Identification of grapevine cultivars with morphological descriptors and molecular markers**  
 Dettweiler, E.; Weihl, T.; Zyprian, E.

*Für die Differenzierung von Rebsorten werden neben morphologischen Merkmalen auch molekulare Marker herangezogen. Letztere können darüber hinaus auch zur Klärung von Abstammungsverhältnissen und Verwandtschaftsbeziehungen beitragen. Ziel ist die Erarbeitung eines Identifikationsschlüssels, der auf morphologischen Merkmalen basiert und im Bedarfsfall durch molekulargenetische Marker ergänzt wird.*

*For the differentiation of cultivars morphological features and molecular markers were used. In addition, the molecular markers can contribute to the clarification of the parentages and degrees of relationships. It is aimed to elaborate an identification key, basing upon morphological characteristics which can be completed by molecular markers, if required.*

Zur Unterscheidung und Identifizierung von Rebsorten mit Hilfe morphologischer Merkmale (Trieb, Blätter, Beeren, Samen) wurde mit der Datensammlung und -bearbeitung fortgefahren, unterstützt von 30 Instituten aus 15 Ländern. Es liegt eine mehrortige Beschreibung von ca. 800 verschiedenen Rebsorten vor. Die statistische Auswertung und die Erstellung eines Identifikationsschlüssels werden in Zusammenarbeit mit der EDV-Gruppe der BAZ, in Quedlinburg vorgenommen. Grundlegend für diese Arbeit ist die Suche nach weiteren Merkmalen bzw. Merkmalskombinationen mit hoher Identifikationsleistung und die Entwicklung eines geeigneten mathematisch-statistischen Verfahrens. Das vom Institut eingerichtete Herbarium umfaßt 3494 Exemplare (Blätter, Samen, Triebspitzen, Pollen) von 1423 verschiedenen Rebsorten. In Zweifelsfällen wurden neben RAPD-Markern 1995 auch Mikrosatelliten-Polymorphismen (an 5 Loci) zur Differenzierung von Rebsorten eingesetzt. Eine Auftrennung der - besonders kurzen und um wenige Basen längenvariablen - PCR-Produkte auf spezieller Agarose scheint zur Auswertung zunächst ausreichend. Bisher wurden 12 Rebsorten dieser Analyse unterzogen. Die im letzten Jahr beschriebenen Differenzierungen wichtiger Unterlagssorten der Weinrebe mit RAPD-PCR wurden nun erstmals auf DNA von Rebwurzeln aus dem Freiland ausgedehnt. Potentielle Abweichungen in den RAPD-Mustern zwischen dem Freiland und sterilem *in vitro*-Material werden derzeit untersucht, um die Praxisrelevanz der Methode einschätzen zu lernen.

Abstract:

For the distinction and identification of grapevine cultivars by morphological descriptors data gathering and compilation was continued. Altogether 800 cultivars were described at several sites. The development of an identification procedure in collaboration with the EDV-Group Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants at Quedlinburg is underway. It is based on the selection of the most appropriate descriptors and descriptor combinations and the most suited mathematical-statistical methods. The grapevine herbarium comprises 3494 specimen from 1423 different cultivars. For grapevine differentiation in the cases of doubt, besides RAPD-patterns, analysis of highly polymorphic microsatellites (5 loci) was started in 1995 on 12 varieties. The polymorphic PCR products vary in length by a few base-pairs only. Their resolution on special formulations of agarose seems suitable for first investigations. The differentiation of economically important rootstock varieties by RAPD-PCR was applied to DNA from roots of field-grown grapevines. The resulting RAPD patterns are compared with those obtained before from the same varieties in axenic tissue culture. These investigations should allow to estimate the practical relevance of the RAPD methods.

(BAZ-5126)

In Zusammenarbeit mit: Kecke, BAZ, EDV-Gruppe, Quedlinburg

175

**2. Streßphysiologie**  
**Stress physiology**

**2.1. Untersuchungen zur Trockenresistenz von Rebsorten**

**Studies on drought resistance of grapevine varieties**

Düring, H.

*Geringe Niederschläge, Böden mit niedriger Wasserspeicherkapazität, hoher Oberflächenabfluß in Hang- und Steillagen und/oder die Begrünung der Weinberge führen in vielen deutschen Weinbaugebieten zur Unterversorgung der Reben mit Wasser. Zur Sicherung der Most- und Weinqualität sollen Methoden entwickelt werden, die zur Identifizierung trockenresistenter Sorten führen. Reben sind in der Lage, ihren Stoffwechsel bei Trockenheit so umzustellen, daß in den Blättern vermehrt osmotisch wirksame Substanzen vorliegen, die auch bei Wassermangel eine Aufrechterhaltung des Blattwasserstatus ermöglichen. Einzelheiten einer solchen osmotischen Anpassung wurden im Jahresablauf ermittelt.*

*Low rainfall, soils with a low water capacity, high surface water flow at the slopes and/or green cover in vineyards lead to water deficiency of grapevines. To guarantee high must and wine quality, methods to identify drought resistant varieties have to be developed. Grapevines are able to alter their metabolism under drought*

*conditions by increasing the amount of osmotic substances; they are able to maintain the leaf water status even under drought conditions. The details of such an osmotic adjustment were analysed during the season.*

Eine weitere Auswertung von Untersuchungen zum Wasserhaushalt und Gaswechsel deutscher und spanischer Sorten im Freiland ergab, daß im Verlaufe des Sommers die Blätter spanischer Sorten trotz höherer Transpirationsraten höhere Turgorwerte bei geringerer Wasserspeicherung aufwiesen als die Blätter deutscher Sorten. Die höheren Turgorwerte, die als ein wichtiges Kriterium der Trockenresistenz gewertet werden können, sind nur zum Teil über ein stärker negatives osmotisches Potential, i. e. über osmotische Anpassung, erklärbar. Es kann somit davon ausgegangen werden, daß auch eine höhere Wasseraufnahmerate an der Aufrechterhaltung des Turgors beteiligt ist. 'Garnacha tinta' zeichnete sich gegenüber 'Riesling' durch eine höhere Photosyntheseleistung, eine bessere Wassernutzungseffizienz und eine geringere stomatare Sensibilität gegenüber abnehmender Luftfeuchte aus, entspricht also mehr dem Ökotyp des "Wasserspenders". Mit Hilfe einer weiterentwickelten Infiltrationstechnik konnte unter den trockenheißen Bedingungen Australiens der Nachweis geführt werden, daß sich auch unter wechselnden Witterungsbedingungen die Stomata eines Blattes in räumlicher und zeitlicher Hinsicht ungleichmäßig öffnen und schließen. Dieses Verhalten erlaubt offenbar eine Feinabstimmung der Stomata einzelner kleiner Blattbereiche auf sich laufend verändernde Licht-, Temperatur- und Luftfeuchtwerte und ist somit von großer ökologischer Bedeutung im Hinblick auf die Trockenresistenz. Vergleichende Untersuchungen an vier Ackerbohnsensorten ließen sortentypische Unterschiede hinsichtlich der Photosyntheserate bei normaler und sättigender CO<sub>2</sub>-Versorgung erkennen. Die hohe Photosyntheseleistung der Sorte 'ILB 2282' beruht auf einer intensiveren Nutzung des blattinternen CO<sub>2</sub> und erklärt die höhere Wassernutzungseffizienz dieser Sorte.

**Abstract:**

A series of Spanish vine varieties were shown to have higher turgor values during the season compared to German varieties. This important character of drought resistant varieties is assumed to be associated with high rates of water uptake, CO<sub>2</sub> assimilation, water use efficiency and a low stomatal sensitivity to declining air humidity. Nonuniform stomatal behaviour of leaves has been demonstrated to occur under stress conditions in Australia and is suggested to be of high ecological importance under drought conditions. Four varieties of *Vicia faba* were shown to differ in their photosynthetic capacity. High rates of CO<sub>2</sub> assimilation contributed to a high water use efficiency.

(BAZ-5108)

In Zusammenarbeit mit: Loveys, CSIRO Div. of Horticulture; Dry, Waite Univ. Adelaide, Australien; Balko, BAZ, Inst. f. Streßphysiologie u. Rohstoffqualität, Groß Lüsewitz

176

**2.2. Untersuchungen von Werteigenschaften bei Rebsorten: Frostresistenz**

**Evaluation of important characters of grape cultivars: winter hardiness**

Düring, H.

*In einigen Weinbaugebieten verursachen Frosttemperaturen im Winter ein Absterben der Knospen oder ganzer Reben, was mit Ertragsausfällen verbunden ist. Zur Ermittlung der Frostresistenz neuer Rebsorten sollen deshalb diagnostische Verfahren entwickelt werden, die eine Beurteilung der Frostresistenz in einem frühen Stadium der Selektion erlauben. Die Untersuchungen zur Ermittlung der Abhärtungsbereitschaft von Rebknospen wurden mit den Sorten 'Riesling' (frostresistent) und 'Silvaner' (frostempfindlich) fortgesetzt. Die Versuche zeigen, daß die Abhärtungsbereitschaft der Knospen offenbar in sortenspezifischer Weise von der Temperatur und ihrer Einwirkungsdauer bestimmt wird.*

*In some vine growing areas frost temperatures in winter will damage buds or entire vines; this is associated with losses of yield. To evaluate frost resistance of new varieties, diagnostic principles have to be developed, which enable a characterization of the degree of frost resistance in an early state of selection. The experiments to evaluate the degree of hardening of grape buds of 'Riesling' (frostresistant) and 'Silvaner' (frost sensitive) were continued; they indicate that the bud's ability for hardening is determined, specifically for each variety, by degree and duration of winter temperatures.*

Für Untersuchungen der Frosthärte wurden Stecklinge der Sorten 'Gf.Ga-52-42', 'Gf.Ga-47-42', 'Orion', 'Phoenix', 'Sirius' und 'Regent' sowie der Vergleichssorte 'Riesling' an drei verschiedenen Terminen im Januar entweder direkt gefroren (9 h, -20 °C) oder nach Abhärtung gefroren (24 h, -11 °C/ 20 h, -20 °C). Die Überlebensrate der Knospen wurde mit dem Chlorophyllfluoreszenzverfahren ( $F_v/F_m$ ) bestimmt. Nur bei den Sorten 'Riesling', 'Sirius' und 'Gf.Ga-52-42' führte eine Abhärtung gegenüber Direktfrostung zu einer signifikanten Erhöhung der Überlebensrate. Wird die Überlebensrate von 'Riesling' gleich 100 % gesetzt, ergibt sich für die übrigen Sorten: 'Gf.Ga-47-42' (64 %), 'Orion' (84 %), 'Phoenix' (90 %), 'Gf.Ga-52-42' und 'Regent' (108 %), 'Sirius' (113 %).

**Abstract:**

The rate of survival of buds of different newbreeds was determined by chlorophyll fluorescence after storage of cuttings at subzero temperatures. Hardening increased the rate of survival in 3 out of 6 varieties.

(BAZ-5107)

177

### 3. Methodenforschung Methodological research

#### 3.1. Entwicklung molekular-genetischer Marker für Pilzresistenz und andere züchterisch wertvolle Eigenschaften der Rebe Development of molecular-genetic markers for fungal disease resistance and other qualities important in grapevine breeding

Zyprian, E.; Böhm, A.; Buck, S.; Schneider, S.

Die Methodik zur Analyse molekularer Marker mittels RAPD-(random amplified polymorphic DNA)-PCR und RFLP (restriction fragment length polymorphisms) unter Verwendung nicht radioaktiv markierter Sonden wurde zunächst für die Weinrebe etabliert. Diese Techniken werden nun daraufhin angewendet, in  $F_1$ -Populationen, die auf den Charakter einer oder mehrerer Pilzresistenzen hin aufspalten, solche Marker zu identifizieren, die mit Resistenz gegen *Plasmopara viticola*, *Oidium tuckeri* oder *Botrytis cinerea* oder auch mit anderen, gut erfassbaren und weinbaulich wichtigen Merkmalen, korrelieren.

In a first step, the methods of RAPD-(random amplified polymorphic DNA)-PCR and RFLP (restriction fragment length polymorphisms) had to be established for grapevine. Now these techniques are in use in the analysis of  $F_1$ -populations segregating for one or multiple resistance(s) to fungal diseases in order to identify markers correlating with resistance to *Plasmopara viticola*, *Oidium tuckeri* or *Botrytis cinerea* or any other character of viticultural significance, that may be easily scored.

Eine Untersuchung von individuellen Protoplastenregeneraten der Weinrebe mit Hilfe der RAPD-PCR wies erstmals somaklonale Variation auf genetischer Ebene durch Ausfall eines RAPD-PCR Produkts nach. Zusätzliche Experimente weisen darauf hin, daß es sich bei der detektierten Veränderung nicht um größere Rearrangements/Deletionen handelt. Die somaklonalen Mutanten zeigen auch phänotypische Veränderungen (verstärkte Bildung von Geiztrieben). Zur Entwicklung der markergestützten Selektion und Suche nach Markern, die mit agronomisch wichtigen Eigenschaften korrelieren, wurde eine etwa 300 Einzelpflanzen umfassende Modellpopulation aus der Kreuzung 'Regent' x 'Lemberger' ausgewählt. Die Individuen spalten für die Resistenzen gegen *Oidium tuckeri* (*Uncinula necator*) an Blatt und Beere, *Plasmopara viticola* (Blatt und Beere), *Botrytis cinerea* (Beere), Beerenhautfarbe, Geiztriebbildung u. a. Merkmale auf. Eine Stichprobe von 47 Einzelpflanzen wurde mit 40 verschiedenen 10 nt Primern in der RAPD-PCR untersucht. Bisher wurden etwa 70 polymorphe Marker registriert. Die Auswertung der erhaltenen Daten ist noch nicht abgeschlossen. Die RAPD-PCR-Methode ist inzwischen - auch bei der Weinrebe - eine Standardmethode zur Sortendifferenzierung und Suche nach Markern, die mit agronomisch wichtigen Eigenschaften korrelieren. Das Auflösungsvermögen von RAPD-PCR-Analysen

kann durch anschließende Restriktionsversuche an den Amplifikationsprodukten z. T. noch erhöht werden. Bei solchen Ansätzen fiel ein partiell *MspI*-schneidbares, identisch großes Produkt von 'Bacchus' und 'Chambourcin' auf. Seine Sequenzierung ergab genetische Information, die zu pflanzlichen Retrotransposons hohe Homologie aufweist. Dies ist der erste Hinweis auf Retrotransposons bei der Weinrebe. Beide Sequenzvarianten - mit und ohne die *MspI*-Erkennungssequenz - sind zu 91,7 % identisch über 679 bp. Dieses Ergebnis ist für die Interpretation von RAPD-Analysen allgemein bedeutsam.

#### Abstract:

Individual grapevine regenerants from single protoplasts (protoplasts; 47 and the original variety 'Seyval blanc') were investigated for somaclonal variation by RAPD-PCR with 60 different 10mer primers. Absence of a single, specific 1680 bp amplification product was observed in three protoplasts. The mutants identified also exhibit phenotypic alterations. This is the first evidence for somaclonal variation on genetic level in grapevine.

In order to develop marker-assisted selection schemes for grapevine breeding and search for markers correlating with agronomically important traits, we chose a model population for investigations. This population has been derived from the cross 'Regent' x 'Lemberger' and comprises about 300 individual  $F_1$  plants, segregating for resistance to three fungal diseases and additional traits. A subset of 47 plants from this population and the parental types were subjected to RAPD-PCR with 40 different 10mer primers. 70 polymorphic markers have been registered so far, but data analysis is not yet complete.

RAPD-PCR gained entry into modern plant breeding and genetic analysis. The patterns are usually employed for cultivar differentiation and the search for markers correlating with agronomically important characteristics, as well as genetic mapping. The resolution of RAPD patterns may be improved if apparently „monomorphic“ products can be differentially restricted with restriction enzymes. In some first assays in this regard, we had observed a specific RAPD product of grapevine varieties 'Bacchus' and 'Chambourcin', which was restrictable, but only partially, with *MspI*. We decided to analyse these RAPD products. The sequences obtained from the two variants (with and without the *MspI* recognition sequence) showed 91,7 % homology to each other and identical size (679 bp). This result calls for cautious interpretation of RAPD data in general. The sequences obtained, both showed strong homology to retrotransposons from plants. This is the first hint for such elements in grapevine.

(BAZ-5115)

In Zusammenarbeit mit: Blaich, Reustle, Lehrstuhl f. Weinbau, Inst. f. Obst-, Gemüse- u. Weinbau, Univ. Hohenheim

### 3.2. Erzeugung von haploiden Reben aus Antheren Production of haploid grapevines from anthers Harst, M.

*Es wurde in den Versuchsjahren 1993...94 eine Methode zur Regeneration von Rebantheren (Sorten: 'Riesling', 'Rupestris du Lot') über den Weg der somatischen Embryogenese erarbeitet. Cytologische Untersuchungen der hiervon bislang differenzierten Pflanzen erbrachten keinen Nachweis auf Haploidie. Die weitere Forschungsarbeit zur Gewinnung haploider Reben konzentriert sich auf die Entwicklung einer Methode zur Mikrosprorenkultur.*

*In 1993...94 a method has been elaborated for the regeneration of grapevine anthers (varieties: 'Riesling', 'Rupestris du Lot') via somatic embryogenesis. Cytological tests of the so far regenerated plants revealed no indication of haploidy. Further studies are focused on the production of haploid grapevines by development of a system for microspore culture and regeneration.*

Durch die Gewinnung haploider Pflanzen bei der ausgeprägt heterozygoten Rebe hönnte homozygotes Pflanzgut zur Verfügung gestellt werden, was eine Verbesserung des Züchtungsverlaufes und eine Erleichterung der Genanalyse darstellen würde. Im Versuchsjahr 1995 konzentrierten sich die Untersuchungen zur Regeneration von Antheren via somatischer Embryogenese auf die Überprüfung des an 'Riesling Cl 90' erarbeiteten Regenerationsprotokolls an 12 weiteren Genotypen unterschiedlicher Herkunft (Gewächshaus, Freiland). 63 präparierten Antheren wurden auf NN69-Basalmedium inokuliert, dem zwei verschiedene Phytohormonkombinationen und jeweils  $\pm 2.5$  mM Phenylalanin (PHE) zugegeben wurden. Zunächst wurden die Antheren für 4 Wochen auf diesen 4 unterschiedlichen Medienvarianten kultiviert: Medium a (5  $\mu$ M 2,4D + 2  $\mu$ M BAP als Standard), Medium b (a + PHE), Medium c (20  $\mu$ M NOA + 4  $\mu$ M TDZ), Medium d (c + PHE). Anschließend erfolgte in vierwöchigen Intervallen eine Subkultur auf zusatzfreies Basalmedium. Zusammenfassend kann festgehalten werden, daß eine Präparation der Antheren von Gescheinen aus dem Freiland die besseren Regenerationsansätze erbrachte und das Standardmedium (Medium a) sich als effektiver als die Vergleichsmedien erwiesen hatte. Zwar konnte bei einigen Genotypen eine leichte Steigerung der Embryogeneserate durch die Zugabe von PHE bei Vertretern der 'Pinot-Gruppe' ('Pinot blanc', 'Pinot gris', 'Pinot noir') erreicht werden, aber im allgemeinen war das Medium a die erfolversprechendere Variante. Die besten Ergebnisse wurden bei der Rebsorte 'Dornfelder' (30 % embryogen reagierende Antheren) erzielt. Sie lagen damit um 8 % über der Referenzsorte 'Riesling'. Bei 'Müller-Thurgau', 'Kerner' und 'Regent' wurden dieselben Embryogeneseraten wie bei 'Riesling' bonitiert. Eine Kultivierung auf Medium c oder d kann bei allen Genotypen aufgrund der resultierenden niedrigen Regenerationsraten nicht empfohlen werden. Von der ungarischen maukeresistenten Rebsorte 'Kunbarat' standen nur mehrjährige Gewächshausreben zur Verfü-

gung. Interessant war, daß an Antheren aus 'Kunbarat'-Infloreszenzen eine Regenerationsrate von 15 % auf dem Standardmedium (a) erreicht wurde. 'Riesling' hatte von derselben Herkunft und auf demselben Medium nur einen Embryoansatz von 4 % erbracht. Die Resultate wurden aus 47 Versuchsansätzen, in denen nahezu 25.000 Antheren präpariert wurden, ermittelt. Wenngleich bislang bei aus Antheren regenerierten Reben noch keine haploiden Individuen festgestellt wurden, ist das Antheren-Regenerationssystem für weinbaulich relevante Rebsorten von großem Interesse. Denn bis dato konnten über Blattscheibensysteme bei Vertretern von *Vitis vinifera* keine oder nur ungenügende Regenerationsraten erreicht werden. Für Isolierungsversuche von Protoplasten kann somit embryogener Kallus zur Verfügung gestellt werden. Nicht zuletzt sind die Ergebnisse für eine Vorselektion geeigneter Genotypen mit hoher Regenerationskompetenz für weiterführende Untersuchungen an Mikrosproren von Bedeutung.

#### Abstract:

Anthers from 12 different grapevine cvs were isolated from greenhouse and field starting material. They were inoculated on four different media for the first four weeks of cultivation: medium a (5  $\mu$ M 2,4D + 2  $\mu$ M BAP, as standard) was compared with medium b (a + 2.5 mM PHE), medium c (20  $\mu$ M NOA + 4  $\mu$ M TDZ), and medium d (c + 2.5 mM PHE). After culture on induction media the anthers were subcultured in 4-week-intervals on basal medium (NN69) without any additives. Best results were obtained on anthers from field derived inflorescences on medium a. The regeneration rate could be improved by the application of phenylalanin only at the grapevine cvs 'Pinot blanc', 'Pinot gris', and 'Pinot noir'. Media c and d cannot be recommended for induction of somatic embryogenesis on anthers of the grapevine. Anthers of the crown gall resistant genotype 'Kunbarat' isolated from greenhouse mother plants and inoculated on medium a responded in a threefold better regeneration than the reference cv. 'Riesling'. Despite the fact that no haploid grapevines have been obtained by anthers this regeneration system could be of great interest for viticulturally important cultivars which cannot be regenerated by leaf disc systems. By induction of embryogenic callus on anthers, starting material for protoplast isolation would also be available from these genotypes. Furthermore, the test of the regeneration capacity of anthers from different genotypes would be helpful for further examinations on *in vitro* androgenesis.

(BAZ-5116)

### 3.3. Regeneration von Blattscheiben-Explantaten der Rebe

#### Regeneration of leaf-disc explants of the grapevine

Harst, M.

Die Anwendung biotechnologischer Methoden in der Züchtungsforschung zur Nutzung interessanter Perspektiven, wie Protoplastenfusion sexuell inkompatibler Kreuzungspartner, Frühselektion auf Embryo- oder Zellebene, wie auch Gentransferuntersuchungen setzen die Verfügbarkeit leistungsfähiger Regenerationssysteme voraus. In Kooperation mit dem Lehrstuhl für Weinbau an der Univ. Hohenheim konnten 1994 erstmals aus Protoplasten der Rebsorte 'Seyval blanc' wieder vollständige Pflanzen regeneriert werden. Die weiteren Untersuchungen konzentrieren sich auf die Übertragbarkeit des Regenerationsprotokolls auf weinbaulich relevante Genotypen.

The application of biotechnological methods in breeding research for using interesting perspectives like protoplast fusion of sexually incompatible genotypes, selection systems based on embryo or single cells as well as transformation experiments require high yielding regeneration systems. In 1994, in cooperation with the Chair of Viticulture at the University of Hohenheim, protoplasts of the grapevine cv. 'Seyval blanc' could be regenerated into intact plants for the first time. Subsequent investigations are concentrated on the application of the regeneration protocol to viticulturally important cultivars.

Nachdem im Versuchsjahr 1994 ein Regenerationsprotokoll für Blattscheiben von *in-vitro*-Pflanzen der Rebsorte 'Seyval blanc' etabliert werden konnte, konzentrierten sich die Untersuchungen 1995 auf die Übertragbarkeit des Systems auf weitere Genotypen wie *Vitis thunbergii*, 'Chancellor', 'Seyve Villard 5-247', 'Pinot noir', 'Pinot Meunier', 'Cabernet Sauvignon', 'Kerner' und 'Faberrebe'. Von den 8 getesteten Genotypen war eine Regeneration via somatische Embryogenese an den aufgelegten Blattscheibenexplantaten bei 4 Genotypen erfolgreich, jedoch konnten keine zur Referenzsorte 'Seyval blanc' vergleichbaren Regenerationsraten erzielt werden. In 31 Versuchsansätzen wurde das bei 'Seyval blanc' eingesetzte Induktionsmedium (NN69 + 20 µM NOA + 4 µM TDZ) jeweils mit und ohne Applikation von 2,5 mM Phenylalanin (PHE) an 72 Blattscheiben/Variante untersucht. Zunächst werden die Blattscheiben in Dauerdunkelheit 4 Wochen auf dem Induktionsmedium kultiviert und anschließend in 4-wöchigen Intervallen auf phytohormon- und PHE-freies Basalmedium subkultiviert. Die Bonitur embryogen reagierender Blattscheiben erfolgte 14 Wochen nach Versuchsbeginn. Bei der Wildart *Vitis thunbergii* wurde in 4 Ansätzen eine durchschnittliche Rate embryogen reagierender Blattscheiben von 26 % bei der Variante ohne PHE-Zusatz und von 18 % bei PHE-Behandlung bonitiert. Bei den interspezifischen Rebsorten hatte sich bei der Vergleichssorte 'Seyval blanc' keine Abhängigkeit zur PHE-

Applikation ergeben; im Durchschnitt von 6 Untersuchungen konnte eine Regenerationsrate bei beiden Varianten von jeweils 60 % ermittelt werden. Bei 'Chancellor' lagen die Regenerationswerte von 5 Versuchsansätzen, unabhängig von einem PHE-Zusatz, bei 22 %. Lediglich 'Seyve Villard 5-247' reagierte in zwei Versuchswiederholungen auf die PHE-Gabe. Es wurden bei einer PHE-Behandlung 6 %, ohne PHE nur 3 % embryogene Blattscheiben ausgewertet. Von den *Vitis vinifera*-Sorten wurde eine sehr geringe Regenerationsrate von nur 0,7 % bei 'Cabernet Sauvignon' erreicht, die durch PHE-Zusatz auf 1,3 % leicht gesteigert werden konnte. Bei den übrigen untersuchten *Vinifera*-Rebsorten wurden keine Regenerationsansätze beobachtet.

#### Abstract:

After establishing a regeneration protocol for leaf-discs of grapevine cv. 'Seyval blanc' in 1994 further examinations were focused on transfer of the regeneration system to other genotypes like *Vitis thunbergii*, 'Chancellor', 'Seyve Villard 5-247', 'Pinot noir', 'Pinot Meunier', 'Cabernet Sauvignon', 'Kerner', and 'Faberrebe'. The leaf discs, isolated from *in-vitro* plantlets, were cultivated four weeks on NN69-medium supplemented with 20 µM NOA and 4 µM TDZ ± phenylalanin (PHE). After the induction period the explantates were transferred every four weeks to NN69 medium without supplements. No influence of a PHE-application could be observed at 'Seyval blanc' (average regeneration rate of 60 %) and 'Chancellor' (22 %). An increase of embryogenic leaf discs could be determined at 'Seyve Villard 5-247' by the PHE-treatment (6 % with PHE, 3 % without PHE), and at 'Cabernet Sauvignon' (1,3 versus 0,7 % embryogenic explants). PHE cannot be recommended for *Vitis thunbergii* were the rate of embryogenic leaf discs decreased from 26 % on induction medium without PHE to only 18 % when PHE was applied. With exception of 'Cabernet Sauvignon', cultivars of *Vitis vinifera* could not be regenerated with the described regeneration protocol.

(BAZ-5117)

180

### 3.4. Entwicklung von Verfahren zur zytogenetischen Charakterisierung von *Vitis* und anderen *Vitaceen*

#### Development of methods for cytogenetic characterization of *Vitis* and other *Vitaceae*

Alleweldt, G.; Haas, H. U.

Chromosomen der Rebe (*Vitis* sp.) gehören zu den kleinsten im Pflanzenreich. Aufgrund der Kontraktion wurde ihre Struktur bisher wenig erforscht. Die Arbeit befaßt sich mit der zytogenetischen Charakterisierung der Rechromosomen. Methodische Arbeitsschwerpunkte liegen in der Präparation der Wurzelspitzen, verschiedener Färbeverfahren, der DNA-Markierung und computergestützten Bildanalyse.

*Grapevine chromosomes are some of the smallest in plants. Because of their contraction only a few approaches have been done to analyse their structure. In this project methods for cytogenetic characterization of the chromosomes of grapevine are elaborated with focus on the preparation of root tips, different kinds of staining procedures, marking of DNA-sequences at the chromosomes, and computer-aided image analyses.*

Durchführung und Neuarbeitung verschiedener zytogenetischer Untersuchungen zur Erstellung einer morphologischen Karte der Chromosomen der Rebe. Die Methoden dienen der Differenzierung und Klärung der Verwandtschaftsverhältnisse sowie der genetischen Charakterisierung der Vitaceen. Im Anschluß an die im Jahr 1994 durchgeführten Versuche zur spezifischen Markierung der Rebchromosomen wurde insbesondere die Methode der *in situ* Hybridisierung so modifiziert, daß eine bessere Erkennung der Fluoreszenz-Signale der Sonden an den Rebchromosomen möglich war. Mit der rDNA-Sonde pTA 71 konnten zwei und mit der 5S-rDNA-Sonde je ein Chromosomenpaar sowohl in *Vitis vinifera* cv. 'Bacchus' als auch in *V. rotundifolia* spezifisch markiert und von den anderen unterschieden werden. Des Weiteren wurde der Karyotyp von *V. vinifera* cv. 'Bacchus' bestimmt. Durch die Verwendung der digitalen Bildanalyse (vgl. BAZ 1301) konnten sowohl im *Euvitis*- als auch im *Muscadinia*-Genom eindeutig zwei Chromosomen mit sekundärer Einschnürung bestimmt werden. Weitere Untersuchungen zeigten, daß ein Chromosomenpaar Nr. 3 in 'Bacchus' morphologisch als dizentrische Chromosomen anzusprechen sind. Durch die Kombination der in der Bildanalyse bestimmten Chromosomenlängen mit den Ergebnissen der spezifischen Markierungen (Silberfärbung, FISH) konnten Thesen zur Genomzusammensetzung, insbesondere der *Euvitis*-Reben, widerlegt werden. Während der Analyse zeigten sich auch Unterschiede der Chromosomenlängen, bedingt durch verschiedene Präparationstechniken. Diese Unterschiede traten nur in der Gesamtlänge auf. Die Längendifferenzen zwischen den 19 Chromosomen blieben jedoch proportional gleich. Damit hatte die Methode keinen Einfluß auf die Position der Chromosomen innerhalb des Karyotyps, und das Standardkaryoprogramm für 'Bacchus' konnte erstellt werden. Die Chromosomen wurden zwischen 2,37 µm (Chromosom 1) und 1,09 µm Gesamtlänge (Chromosom 19) bestimmt. Die Arbeiten wurden im Berichtszeitraum abgeschlossen. Die Ergebnisse wurden als Dissertation an der Univ. Hohenheim eingereicht und werden 1996 publiziert.

#### Abstract:

The methods for specifically marking grapevine chromosomes by using fluorescent *in situ*-hybridization were improved. As results some more pairs of chromosomes could be marked well and distinguished from the others. The karyotype of *V. vinifera* cv. 'Bacchus' was established and the chromosomes definitely numbered from 1 to 19, recording to their length. By using the rDNA-probe pTA 71 a small terminal signal was mentioned at chro-

mosome 16, additional to the signal in the NOR region of chromosome 1. Furthermore a dizentric chromosome was determined in 'Bacchus'. For the first time it was possible to negate the published theories about the composition and phylogenesis of the *Euvitis* genome.

(BAZ-5128)

181

## 4. Qualitätsforschung Quality research

### 4.1. Die Bestimmung von Werteigenschaften bei Rebsorten: Beerenreife

#### Evaluation of characteristics of grapevine varieties: berry maturation

Düring, H.

*Die Geschwindigkeit der einzelnen qualitätsbildenden Entwicklungsprozesse in Weinbeeren ist sortenabhängig. Eine Beurteilung der Frage, ob neue Sorten unter den gegebenen klimatischen Bedingungen ausreichend hohe Most- und Weinqualitäten zu liefern vermögen, basiert deshalb auf phänologischen Analysen des Reifebeginns sowie der Geschwindigkeit der Zuckereinlagerung und des Säureabbaues.*

*The velocity of developmental processes during berry ripening determines must quality and is variety-specific. Whether new varieties are able to produce high must and wine quality under certain climatic conditions depends therefore on phenological data like date of the onset of ripening, velocity of sugar accumulation, and degradation of acidity in berries.*

1995 lag der Blühzeitpunkt der 6 *Vitis vinifera*-Sorten 'Riesling', 'Müller-Thurgau', 'Bacchus', 'Domina', 'Silvaner' und 'Morio Muskat' recht einheitlich zwischen dem 26. und 30. Juni und damit etwa 22 Tage später als 1993. Ähnliches gilt für die Mehrzahl der interspezifischen Neuzüchtungen, nur bei 'Gf.Ga-47-42' und 'Gf. 67-198-2' war ein etwas früherer Blühtermin festzustellen. Der Zeitraum von der Blüte bis zum Reifebeginn (25 °Oe) variierte zwischen 48 und 68 Tagen, wobei die Sorten 'Gf. 67-198-2' und 'Gf.Ga-47-42', 'Bacchus', 'Sirius', 'Phoenix', 'Regent' mit 48...51 d (gegenüber 'Riesling' und 'Gf.Ga-52-42' mit 67 bzw. 68 d) diese Entwicklungsphase relativ rasch durchliefen. 1995 war, verglichen mit den Vorjahren, aufgrund der ungünstigen Witterung eine deutlich verzögerte Beerenentwicklung festzustellen. Trotz der extremen Wetterlage im September erreichten 'Regent' und 'Gf.Ga-47-42' die 65 °Oe-Schwelle mit 28 bzw. 26 d relativ früh. Interessanterweise verlief der Säureabbau 1995 insgesamt rasch und bei den einzelnen Sorten stark differenziert. So benötigten die Sorten 'Gf.Ga-47-42', 'Phoenix' und 'Staufer' 13, 18 bzw. 19 d, während 'Riesling' und 'Gf.Ga-52-42' 35 bzw. 44 d brauchten, um ihre Mostsäure vom Maximum um 20 % abzusenken.

**Abstract:**

In 1995 unfavorable weather conditions led to a delay of bloom time. For 6 varieties (*Vitis vinifera*) and 9 interspecific varieties the duration from bloom to the onset of ripening and the ripening period itself were much longer compared to former years. Only the duration of degradation of must acidity appeared to be enhanced, the 15 varieties demonstrating distinct differences.

(BAZ-5109)

182

#### 4.2. Untersuchungen über die Aromastoffe des Mostes und Weines: terpenoide Verbindungen, Sortencharakterisierung

**Investigations on aroma compounds of must and wine: terpene compounds, varietal characterization**

Rapp, A.

*Ermittlung sortenspezifischer Aromastoffe verschiedener Rebsorten zur Erarbeitung einer Methode zur analytischen Bestimmung von Weinqualität und Sortencharakter pilzresistenter Neuzüchtungen. Die Aromagramme ("Fingerprintmuster") der verschiedenen Rebsorten zeigen signifikante Unterschiede in der Quantität zahlreicher sortencharakteristischer Komponenten ("Leitsubstanzen"). Die Monoterpenverbindungen besitzen eine zentrale Bedeutung für die geschmackliche Ausprägung des sortentypischen Weinbuketts. Durch Auswahl geeigneter Komponenten und Anwendung der Diskriminanzanalyse können mit nur wenigen Komponenten die Rebsorten einwandfrei unterschieden werden.*

*Determination of varietal-characteristic aroma compounds as a basis of an analytical screening method for the characterization of vine varieties and wine quality of fungus-resistant grapevine cultivars. Significant differences in the quantity of numerous "key substances" may be identified from the "fingerprint pattern" of the various grape varieties. Monoterpene compounds are of major importance for the sensory expression of the wine bouquet. Selecting appropriate compounds and aided by a statistical computer program (discriminant analysis) a clear distinction is possible.*

Das sortencharakteristische Weinbukett wird weitgehend geprägt von der quantitativen Zusammensetzung der Monoterpenkomponenten (Monoterpenether, Monoterpenalkohole, Monoterpene). Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse gelang uns mit nur 18 solcher Komponenten (u. a. Linalool, Geraniol,  $\alpha$ -Terpineol) eine signifikante, analytische Differenzierung der meisten Standardsorten ('Riesling', 'Silvaner', 'Morio Muskat', 'Traminer') und auch der von 'Riesling' abstammenden Neuzüchtungen. Neben den freien flüchtigen Aromastoffen kommen in den Weinbeeren zahlreiche Verbindungen (u.a. Monoterpene, C<sub>6</sub>-Alkohole, Norisoprene) glykosidisch gebunden vor. Diese Verbindungen können mit speziellen Verfahren isoliert und durch entsprechende Enzyme (Glycosidasen) vom Zuckerrest abgetrennt und anschließend gaschromatographisch bestimmt werden.

Unsere Ergebnisse zeigen signifikante Unterschiede im Gehalt einiger dieser gebundenen Komponenten bei den verschiedenen Rebsorten. So unterscheidet sich beispielsweise die Rebsorte 'Bacchus' im Gehalt von Terpendiol-I, trans-8-Hydroxylinalool und p-Menth-1-en-7,8-diol hoch signifikant von der Rebsorte 'Müller-Thurgau' und im Gehalt von cis/trans (p)-Linalooloxiden und 3-Keto- $\alpha$ -Ionol deutlich von der Rebsorte 'Kerner'. Durch eine gleichzeitige Verwendung von freien und glykosidisch gebundenen Aromakomponenten kann die diskriminanzanalytische Differenzierung der einzelnen Rebsorten eindeutig verbessert werden. Mit dieser Methodik lassen sich auch Neuzüchtungen gleicher Abstammung voneinander differenzieren.

**Abstract:**

Determination of varietal-characteristic aroma compounds as a basis of an analytical screening method for the characterization of vine varieties and wine quality of fungus-resistant grapevine cultivars. Significant differences in the quantity of numerous „key substances“ may be identified from the „fingerprint pattern“ of the various grape varieties. Monoterpene compounds are of major importance for the sensory expression of the wine bouquet. Selecting appropriate compounds and aided by a statistical computer program (discriminant analysis) a clear distinction is possible.

(BAZ-5123)

183

#### 4.3. Untersuchungen über die Aromastoffe des Mostes und des Weines: Unerwünschte Aromastoffe ("medizinisch/Arzneinote"; "bitter metallisch")

**Investigations on aroma compounds of must and wine: Off-flavour („medicine-flavour“, „bitter-metallic“)**

Rapp, A.

*Anreicherung und Identifizierung von Komponenten, die einen unerwünschten Medizin-/Arzneinote im Wein verursachen, im Hinblick auf eine analytische Frühdiagnose zur Selektion von Neuzüchtungen ohne diese unerwünschten Aromastoffe. Einige flüchtige Phenolverbindungen können im Wein einen deutlich wahrnehmbaren phenolisch-medizinischen Geschmack verursachen. Ebenso treten metallische Bittertöne auf (verschiedene Stickstoff-Verbindungen).*

*Identification of aroma compounds causing undesirable "medicine" flavours. Early diagnosis of new grape varieties without unpleasant flavours. Some volatile phenolic compounds are due to off-flavour notes. Especially 4-ethylphenol causes a medicine taste. Some volatile nitrogen-compounds cause metallic bitter notes.*

Einige der im Wein identifizierten flüchtigen Phenolverbindungen können ab bestimmten Gehalten (Geruchsschwellenwert) im Wein unerwünschte Aromastoffe (wie z. B. phenolisch, rauchig, medizinisch, holzig) hervorrufen. Diese Verbindungen werden durch enzymatische Reaktionen beim Weinausbau aus den

Phenolcarbonsäuren (insbesondere aus Ferulasäure und p-Cumarsäure) gebildet. Die Gehalte an Phenolcarbonsäuren sind sortenabhängig und können zusätzlich in Abhängigkeit von Maischestandzeiten durch enzymatische Spaltung von glykosidisch gebundenen Vorstufen zusätzlich gebildet werden. Die Hauptkomponenten der flüchtigen Phenolfraktion sind 4-Vinylguajacol, 4-Vinylphenol, 4-Ethylguajacol und 4-Ethylphenol. In Weißweinen dominieren die Vinylphenole (z. B. 4-Vinylphenol-Gehalt 70...1150 µg/l) und in Rotweinen die entsprechenden Ethylphenole (z. B. 4-Ethylphenolgehalt 50...700 µg/l). Bei Vinylphenolgehalten von > 700 µg/l ( $\Sigma$  4-Vinylguajacol + 4-Vinylphenol) und bei Ethylphenolgehalten von > 400 µg/l ( $\Sigma$  4-Ethylguajacol + 4-Ethylphenol) wird die Weinqualität durch unangenehme Aromaten (u. a. phenolisch, medizinisch, rauchig) negativ beeinflusst.

Der Verursacher des seit einigen Jahren in Weinen auftretenden „Foxtons“, „Hybridtons“ konnte als 2-Aminoacetophenon identifiziert werden. Die Komponente kommt in allen Weinen vor mit Gehalten von 10...2000 ng/l. Ab Gehalten von 700...1000 ng/l werden die Weine wegen deutlicher Fehlnote abgelehnt. Da diese Komponenten in vielen amerikanischen Wild- und Kulturreben (u. a. 'Isabella', 'Cook', 'Catawba') den unangenehmen Fox-/Hybridton verursachen, war eine Überprüfung über das Vorkommen dieser Komponente in Neuzüchtungen (insbesondere der pilzresistenten Rebsorten) erforderlich. Für das Auftreten der unangenehmen Aromatenote konnte bei den bisher untersuchten Weinen keine Abhängigkeit von der Rebsorte festgestellt werden. Erhöhte Gehalte an 2-Aminoacetophenon waren vorwiegend in Weinen aus trockengeschädigten Beeren enthalten.

**Abstract:**

Identification of aroma compounds, causing undesirable flavours, for an analytically early diagnosis of new grape varieties without unpleasant flavours. Some volatile phenolic compounds are due to off-flavour notes. Especially 4-ethylphenol causes a medicine taste if concentrations are higher than 400 µg/l. Some volatile nitrogen-compounds cause metallic bitter notes. 2-aminoacetophenone, available in wines in concentrations between 10...2000 ng/l is responsible for the unpleasant „foxiness/hybrid“-off-flavour of wine (sensorial threshold 700...1000 ng/l).

(BAZ-5122)

184

**4.4. Entwicklung einer Schnellmethode zur Bestimmung des Erdbeertones in Weinbeere und Wein**  
**Development of a screening method for the determination of the strawberry flavour in grape and wine**

Rapp, A.

*Analytische Bestimmung von Furaneol (2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3-furanon) in Wein zur einwandfreien Frühdiagnose neuer pilzresistenter Rebsorten, die frei sind von dieser unerwünschten Aromatenote. Mit Hilfe der Schnüffeltechnik können unerwünschte Aromatenoten im komplexen Aromagemisch aufgefunden und anschließend mit der GC-MS-Technik identifiziert werden. Furaneol konnte so als die verursachende Komponente der unerwünschten Erdbeernote identifiziert werden. Durch Anwendung einer hochspezifischen Analysetechnik (zweidimensionale Gaschromatographie) können neue Rebsorten ausgelesen werden, die frei sind von dieser Aromatenote.*

*Determination of furaneol (2,5-dimethyl-4-hydroxy-3-furanone) in wine for an early diagnosis of new fungus-resistant grape varieties which are free of this unpleasant strawberry-flavour. With the aid of "sniffing-technique" and GC-MS-technique the identification of aroma compounds, causing undesirable flavours, is possible. Furaneol could be identified as the substance causing the undesirable strawberry off-flavour in wine. With the aid of a high resolution GC (two dimensional GC) an early diagnosis for the selection of new fungus resistant grape varieties, free of this off-flavor, is possible.*

2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3-furanon (Furaneol), die Komponente, die den unerwünschten Erdbeerton in Weinen verschiedener Rebsorten verursacht, ist entsprechend der chemischen Eigenschaften (Polarität, Siedepunkt, Stabilität) analytisch nur schwer im erforderlichen Spurenbereich bestimmbar. Eine entsprechende Anreicherung ist nur unter Verwendung eines Lösungsmittelgemisches von Freon und Dichlormethan möglich. Aus diesen Aromaextrakten läßt sich Furaneol unter Anwendung der zweidimensionalen gaschromatographischen Analysetechnik einwandfrei abtrennen und quantitativ bestimmen (Nachweisgrenze 1 ppb) (s. Abb. 1). Da die Geschmacksschwelle zur sensorischen Erkennung des unerwünschten Erdbeertones, je nach Restsüße des Weines, bei 70...300 ppb Furaneol liegt, ist die analytische Qualitätsbeurteilung zur einwandfreien Selektion neuer Rebsorten, entsprechend der deutlich geringeren Nachweisgrenze (1 ppb), wesentlich empfindlicher und zuverlässiger.

In den Jahren 1994 und 1995 wurde mit dieser Methode von mehr als 150 pilzresistenten Zuchtstämmen der Furaneolgehalt untersucht. Dabei zeigt sich, daß aus einigen Kreuzungstypen brauchbare Zuchtstämme (Furaneolgehalte < 50 ppb) erreicht werden. Hohe Furaneolgehalte (> 300 ppb), mit deutlich wahrnehmbarem Erdbeerton, traten vorwiegend bei Sämlingen aus Kreuzungen mit 'S.V. 1-72' oder 'Plantet' auf. Mit dieser von uns ausgearbeiteten Analysetechnik (schonende Anrei-

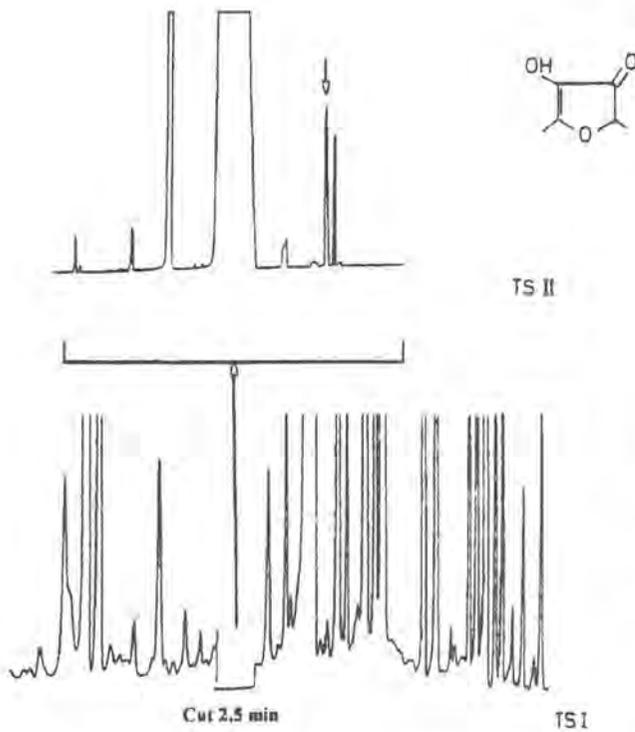


Abb. 1: Bestimmung von Furaneol mit Hilfe der zweidimensionalen Gaschromatographie

cherung, Auftrennung mit zweidimensionaler Gaschromatographie) gelang es, Furaneol erstmals auch in *Vitis vinifera*-Rebsorten nachzuweisen (Tab. 1). In Weinen aus amerikanischen Wild- und Kulturreben (Tab. 1, Gruppe A) liegen die Gehalte für Furaneol im ppm-Bereich. Auch in Weinen der älteren pilzresistenten Neuzüchtungen wie u. a. 'Castor' oder 'Bacchus' x 'A 100-3' (Tab. 1, Gruppe B) sind die Gehalte so hoch

(> 300 ppb), daß die Weine eine deutlich wahrnehmbare Erdbeernote besitzen. In den heutigen pilzresistenten Rebsorten aus der Abstammung 'Villard blanc' x 'Bacchus' (z. B. 'Phoenix') oder 'Villard blanc' x 'Optima' (z. B. 'Orion') liegen die Gehalte im Bereich unter 20 ppb (Tab. 1, Gruppe C). Die Gehalte liegen unter dem sensorischen Schwellenwert und somit ist bei diesen Weinen ein unerwünschter Erdbeerton nicht zu erkennen. Auch bei den Weinen von *V. vinifera*-Rebsorten (Tab. 1, Gruppe D) liegen die Furaneolgehalte in der Größenordnung wie die der neuen pilzresistenten Rebsorten (Gruppe C), die in der sonstigen Aromazusammensetzung wie auch in der geschmacklichen Beurteilung den *V. vinifera*-Sorten sehr ähnlich sind. Bei Rotweinen konnte eine deutliche Zunahme des Furaneolgehaltes durch technologische Maßnahmen festgestellt werden. Rotweine, die durch Maischeerwärmung (20 min. Standzeit bei 70 °C) erzeugt werden, haben deutlich höhere Gehalte als die entsprechenden durch Maischegärung erzeugten Produkte (Tab. 1).

Abstract:

Determination of furaneol (2,5-dimethyl-4-hydroxy-3-furanone) in wine for an early diagnosis of new fungus-resistant grape varieties which are free of this unpleasant strawberry-flavour. With the aid of „sniffing-technique“ and GC-MS-technique the identification of aroma compounds, causing undesirable flavours, is possible. Furaneol could be identified as the substance causing the undesirable strawberry off-flavour in wine. With the aid of a high resolution GC (two dimensional GC) an early diagnosis for the selection of new fungus

Tab. 1: Furaneolgehalte in Weinen verschiedener Rebsorten

| Rebsorte   | Gruppe | Furaneol ppb | Erdbeernote erkennbar |
|--|--------|--------------|-----------------------|
| 1992 Isabella rong ( <i>V. Labrusca</i> )            | A      | 2340         | +                     |
| 1992 Noah ( <i>V. Labrusca</i> x <i>V. riparia</i> ) |        | 1350         | +                     |
| 1992 Bacchus x A 100-3*                              | B      | 620          | +                     |
| 1992 Castor*   |        | 325          | +                     |
| 1991 Phoenix*  | C      | 10           | -                     |
| 1991 Orion*  |        | 6            | -                     |
| 1994 Regent* (Rotwein)                               |        | 5            | -                     |
| 1993 Phoenix x 75-63-93*                             |        | 6            | -                     |
| 1992 Müller-Thurgau                                  | D      | 13           | -                     |
| 1992 Riesling  |        | 7            | -                     |
| 1993 Scheurebe                                       |        | 21           | -                     |
| 1992 Morio Muskat                                    |        | < 1          | -                     |
| 1993 Silvaner  |        | < 1          | -                     |
| 1992 Spätburgunder MG**                              |        | 8            | -                     |
| 1992 Spätburgunder ME***                             |        | 84           | -                     |

\* pilzresistente Neuzüchtungen, Inst. f. Rebenzüchtung Geilweilerhof

\*\* Maischegärung

\*\*\* Maischeerwärmung (20 min Standzeit bei 70 °C)

resistant grape varieties, free of this off-flavour, is possible. Furanol is also present in *Vitis vinifera* grapes, in concentrations < 30 ppb.

(BAZ-5119)

185

#### 4.5. Rotweinfarbstoffe: Der Anthocyangehalt Anthocyanins of red wine: the content

Steffan, H.

*Konzentration und Zusammensetzung der Anthocyane bestimmen den Charakter der Rotweinfarbe. Erwünscht sind Neuzüchtungen mit tiefer Farbe und rotem, nicht violetter Farbton. Gefordert ist eine Frühdiagnosemethode zur Feststellung des Farbstoffgehaltes und Farbtones, welche sich für die Untersuchung an den ersten Sämlingen eignet. Außerdem sind die Anteile an gerbenden und nichtgerbenden Phenolen (Gerbstoffe, Tannine) interessant für die Geschmacksqualität. - In Freilandversuchen (Sonnen- und Schattentrauben) werden Standardsorten und Neuzüchtungen in Abhängigkeit vom jeweiligen Reifezustand untersucht sowie Anthocyangehalt und -zusammensetzung ermittelt.*

*The character of red wines depends on concentration and composition of anthocyanins. New varieties with deep red, non-violet, colour are required. A method was elaborated to determine colour quality at an early stage of breeding. Analyses were carried out by HPLC, photometric methods, column- and thin layer chromatography.*

Nach Erarbeitung einer Frühdiagnose für Rotweine neuzüchtungen (Extraktion, Vorreinigung an Ionenaustauscher, Konzentrierung, Fotometrie, Dünnschichtchromatographie), um bei Sämlingen Farbstärke und Farbton zu bestimmen, wurden rund 200 Neuzüchtungen getestet. 33 % davon sind Rotweintypen, die dem Zuchtziel kräftiger, dunkelfarbiger Weine entsprechen. Ferner wurde chromatographisch nach Violett- und Rottönen unterschieden, da letzterer Farbton ebenfalls erwünscht ist. In rund 60 % der untersuchten Neuzüchtungen konnte der für Wildreben charakteristische Anthocyanfarbstoff Malvin nicht nachgewiesen werden. Damit entspricht das DC-Fingerprintmuster dieser Rebsorten dem von Europäersorten. In Anreicherungsversuchen mit quantitativer Säulenchromatographie und HPLC konnte bisher kein Malvin in *Vitis vinifera*-Rebsorten nachgewiesen werden (Nachweisgrenze 30 ppb).

Abstract:

A method of early recognition of color quality of new red wine breedings was elaborated. Among 200 seedlings 34 % were grouped to the highly intense colored varieties, and 35 % to the medium colored red wines. Furthermore the color notes were studied to find out the red and violet types. In 60 % of the seedlings no Malvin had been found. There was also no success to find Malvin in European varieties.

(BAZ-5125)

186

#### 4.6. Phenolgehalt und SO<sub>2</sub>-Bedarf in Wein Content of phenolic compounds and SO<sub>2</sub>-satisfaction

Rapp, A.

*Entwicklung einer Methode zur Selektion von Neuzüchtungen mit geringem SO<sub>2</sub>-Bedarf. Neben Carbonylverbindungen, deren Gehalte vom Gesundheitszustand der Weinbeeren und dem Gärverlauf abhängen, gibt es weitere von der Rebsorte geprägte SO<sub>2</sub>-bindende bzw. SO<sub>2</sub>-verbrauchende Komponenten. Bei den untersuchten Sorten zeigt sich ein Zusammenhang zwischen SO<sub>2</sub>-Bedarf und dem Phenolgehalt: je polarer die Phenolfractionen sind, desto höher ist der SO<sub>2</sub>-Bedarf.*

*Development of a method for the selection of new grapevine varieties with a low SO<sub>2</sub>-satisfaction. The carbonyl compounds are well known as SO<sub>2</sub>-binding substances. The content of these compounds in wine is influenced by the health conditions of the berries and the fermentation stage. Furthermore there is a relation between phenol content and the SO<sub>2</sub>-satisfaction. This part of SO<sub>2</sub>-satisfaction is influenced by the grapevine varieties.*

Neben den Carbonylverbindungen, deren Gehalte vom Gesundheitszustand der Weinbeeren und dem Gärverlauf/Gärstadium abhängen, gibt es weitere von der Rebsorte geprägte SO<sub>2</sub>-bindende bzw. SO<sub>2</sub>-verbrauchende Komponenten. Unsere Untersuchungen zeigen, daß zwischen den einzelnen Rebsorten deutliche Unterschiede bestehen im Gehalt der Reduktone und dem Phenolgehalt. Zwischen dem Phenolgehalt bzw. der Zusammensetzung der Phenolfraction und dem sortencharakteristischen SO<sub>2</sub>-Bedarf besteht ein enger Zusammenhang. Eine Aufklärung der hierfür verantwortlichen Phenolkomponente(n), aus deren Analyse eine Methode zur Bestimmung des SO<sub>2</sub>-Bedarfs abgeleitet werden kann, ist in Bearbeitung.

Abstract:

Development of a method for the selection of new grapevine varieties with a low SO<sub>2</sub>-satisfaction. The carbonyl compounds are well known as SO<sub>2</sub>-binding substances. The content of these compounds in wines is influenced by the health conditions of the berries and the fermentation stage. Furthermore there is a relation between phenol content and the SO<sub>2</sub>-satisfaction. This part of SO<sub>2</sub>-satisfaction is influenced by the grapevine varieties.

(BAZ-5118)

187

#### 4.7. Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der charakteristischen Aromakomponenten von Äpfeln

##### Development of a GC-method for the determination of the characteristic aroma compounds in apple

Rapp, A.

*Es soll versucht werden, die Fruchtqualität der Apfelfrüchte aus dem Resistenzzüchtungsmaterial anhand von Indikatorsubstanzen (Polyamine) auf ihre Lagereignung und Stresstoleranz zu charakterisieren. Mit Hilfe von HPLC-Analysen werden Polyamingehalt und -zusammensetzung erfaßt. Ferner wird eine Methode zur Bestimmung der charakteristischen Aromakomponenten von Äpfeln erarbeitet als Basis für eine analytische Beurteilung bei der Selektion neuer pilzresistenter Apfelsorten.*

*The quality of apple fruits from the resistant breeding material will be characterized for storability and stress load by means of marker substances (polyamines). The polyamine content and composition will be analysed by HPLC. Furthermore, a GC-method for the determination of the characteristic aroma compounds in apple is presently developed to allow analytical assessment when selecting new fungus-resistant apple varieties.*

Die von uns ausgearbeitete und angewandte Methode zur Anreicherung und gaschromatographischen Bestimmung der Aromastoffe von Weinbeeren und Weinen wurde zur Anwendung im Rahmen der Untersuchung des Apfelaromas als Basis für eine analytische Selektion neuer pilzresistenter Apfelsorten überprüft.

Die kapillarchromatographische Auftrennung der Aromaextrakte zeigt deutliche Unterschiede zwischen den sortencharakteristischen Aromamustern der untersuchten Apfelsorten. Zahlreiche der sortencharakteristischen Aromakomponenten wurden massenspektrometrisch

identifiziert. Viele dieser Komponenten können einen wesentlichen Beitrag für den Genußwert der Apfelproben liefern, so u. a. die Acetate mit ihrem fruchtig/frischen Aroma. Beim Vergleich der verschiedenen Sorten sind deutliche Unterschiede im Gehalt an Acetaten, höheren Alkoholen und Buttersäureestern festzustellen. Eine deutlich abweichende Zusammensetzung liegt bei einigen pilzresistenten Apfelsorten ('Releika', 'Renora') vor (Tab. 1). Während bei 'Releika' die höchsten Gehalte an höheren Alkoholen (2-Methylbutanol-1, und Hexanol) vorliegen, sind bei dieser Sorte nur geringe Gehalte der fruchtigen Acetate (Butylacetat, 2-Methylbutylacetat, Hexylacetat) vorhanden. Die pilzresistenten Apfelsorten 'Remo', 'Reanda' und 'Resi' ähneln in den Gehalten dieser Komponenten den mituntersuchten Standardsorten.

##### Abstract:

Determination of varietal characteristic aroma compounds as a basis of an analytical screening method for the characterization of the quality of new fungus-resistant apple cultivars.

(BAZ-4107)

In Zusammenarbeit mit: Fischer C., Sandke, BAZ, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz

188

#### 4.8 Untersuchungen über die phenolischen Geschmackskomponenten

##### Investigations on the phenolic flavour compounds

Rapp, A.

*Entwicklung einer Frühdiagnose zur Erforschung unerwünschter Geschmackskomponenten. Die phenolischen Verbindungen (Phenolcarbonsäure, Gerbstoffe, Tannine) sind von großer Bedeutung für die Geschmacksausprägung (Bitterkeit, Adstringenz) eines Weines sowie für seine Farbstabilität. Zwischen den untersuchten Rebsorten bestehen deutliche Unterschiede im "Phenolmuster".*

Tab. 1: Aromastoffe verschiedener Apfelsorten (Relative Peakhöhen, bezogen auf Standard)

| Komponenten                   | Remo <sup>1</sup> | Reanda <sup>1</sup> | Resi <sup>1</sup> | Releika <sup>1</sup> | Renora <sup>1</sup> | Florina <sup>2</sup> | Clivia <sup>2</sup> |
|-------------------------------|-------------------|---------------------|-------------------|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|
| 2-Methylbutanol-1             | 9600              | 7940                | 6410              | 26890                | 11970               | 650                  | 2020                |
| Pentanol-1                    | 320               | 550                 | 1055              | 9890                 | 460                 | 30                   | 120                 |
| Hexanol-1                     | 13985             | 12375               | 16630             | 26830                | 4040                | 990                  | 5730                |
| Methionol                     | 355               | 550                 | 660               | 375                  | 795                 | 60                   | 45                  |
| Butylacetat                   | 26190             | 15750               | 16630             | 2                    | +                   | 1055                 | 8550                |
| 2-Methylbutylacetat           | 13875             | 4188                | 3030              | +                    | 3                   | 1000                 | 3290                |
| n-Amylacetat                  | 1190              | 590                 | 815               | +                    | +                   | 90                   | 280                 |
| Hexylacetat                   | 26195             | 9625                | 14300             | 6                    | 15                  | 1440                 | 5310                |
| Buttersäurepropylester        | 160               | 660                 | 830               | 750                  | 80                  | 50                   | 45                  |
| Buttersäurebutylester         | 190               | 500                 | 2185              | 390                  | 85                  | 40                   | 195                 |
| Buttersäurehexylester         | 630               | 710                 | 2045              | 1195                 | 125                 | 70                   | 105                 |
| 2-Methylbuttersäurebutylester | 580               | 30                  | 205               | 195                  | 10                  | 90                   | 105                 |

<sup>1)</sup> pilzresistente neue Apfelsorten

<sup>2)</sup> Standard Apfelsorten

Dabei treten bei den einzelnen Rebsorten einige sortencharakteristische Komponenten ("Leitsubstanzen") in ihrer Quantität deutlich hervor: Cumaryl-tartrat, Salicyl-tartrat, Gallussäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure, Syringasäure.

*Development of an early diagnosis for undesirable taste compounds. The phenolic compounds (phenolic acids, tannins) cause some characteristic sensoric accents in wine (bitterness, astringency) and stability of colour. The phenolics were extracted, purified by column chromatography and analysed by HPLC: The diagrams show a typical "fingerprint pattern", demonstrating the different character of each variety. There are significant differences in the fingerprint pattern in typical compounds ("key substances"). Such key substances are: cumaric acid, ferulic acid, coumaroyltartrate, trihydroxybenzoic acid.*

Die phenolischen Verbindungen (Phenolcarbonsäuren) sind von großer Bedeutung für die Geschmacksausprägung (Bitterkeit, Adstringenz) eines Weines sowie für seine Farbstabilität. Zwischen den untersuchten Sorten fanden wir deutliche Unterschiede in der Zusammensetzung der Phenolcarbonsäuren („Phenolmuster“). Dabei treten bei den einzelnen Rebsorten einige sortencharakteristische Komponenten („Leitsubstanzen“) in ihrer Qualität deutlich hervor: Cumaryl-tartrat, Gallussäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure, Syringasäure. Bei der Rebsorte 'Pollux' wurden wesentlich höhere Gehalte an Gallussäure und p-Cumarsäure ermittelt als bei 'Riesling'. Beide Säuren können bei Gehalten von mehr als 500 ppm eine bittere, unreif-grasige, adstringierende Geschmacksnote verursachen. Zusätzlich haben p-Cumarsäure und Ferulasäure eine besondere Bedeutung, da diese Verbindungen die Vorstufen der flüchtigen Vinylphenole sind, die schon in Konzentrationen im µg-Bereich (ppb) unerwünschte Aromastoffe (Arzneiton, Medizinton, Rauchton) hervorrufen können. Wie unsere Ergebnisse weiterhin zeigen, wird das sortentypische Phenolmuster sehr deutlich von der Maischestandzeit beeinflusst. Bei Maischestandzeiten von mehr als 3 Stunden nehmen die Gehalte an den meisten Phenolcarbonsäuren deutlich zu als Folge der enzymatischen Spaltung der glykosidisch gebundenen Phenolcarbonsäuren. Eine Methode zur einfachen Anreicherung und schnellen quantitativen Bestimmung der qualitätsbestimmenden Phenolcarbonsäuren (Gallussäure, Salicylsäure, p-Cumarsäure, Ferulasäure) für eine analytische Qualitätsbeurteilung im Rahmen der Selektion geeigneter pilzresistenter Neuzüchtungen wird bearbeitet.

Abstract:

In the contents of some phenolic acids exist significant differences between grape varieties. The main compounds are trihydroxybenzoic acid, p-coumaric acid, ferulic acid, and coumaroyltartrate. Contents higher than 500 ppm cause unpleasant taste notes like: grassy, bitter, unripe. These phenolic compounds are also the precursors of volatile phenol-compounds causing off-flavours like medicine-note, smoky, leathernote.

(BAZ-5120)

189

## 5. Züchtung Breeding

### 5.1. Züchtung bei Reben gegen pilzliche Krankheiten (Plasmopara, Oidium, Botrytis) mit hoher Qualitätsleistung

**Breeding of vines resistant to fungus diseases (Plasmopara, Oidium, Botrytis) with high quality**  
Eibach, R.

*Die Entwicklung neuer Rebsorten mit vollständiger oder weitgehender Resistenz, vor allem gegenüber den weinbaulich wichtigsten Mehltau- und Grauschimmelkrankheiten, führt zu einer wesentlichen Verminderung des Pflanzenschutzmittelaufwandes und eröffnet die Möglichkeit eines umweltschonenden Weinbaues. Zur Steigerung der Züchtungseffizienz werden die im Rahmen der Züchtungsforschung erarbeiteten Methoden und Verfahren in die Züchtung integriert. Neue aussichtsreiche Rebsorten werden in Zusammenarbeit mit dem Bundesortenamt (Sortenschutz, Sortenliste) und der Weinbaupraxis auf ihre Anbaueignung überprüft.*

The development of new grapevine varieties with a complete or most extensive resistance to the viticulturally important fungus diseases (Plasmopara, Oidium, Botrytis) reduces considerably the plant protection measures and contributes thus to an ecologically beneficial viticulture. To improve breeding efficiency, the elaborated new methods and procedures are incorporated. Newly developed promising grapevine varieties are officially tested in cooperation with the Federal Variety Office (plant protection, variety list) and the practical viticulture for their suitability.

1995 wurden aus 82 durchgeführten Kreuzungskombinationen ca. 36 000 Samen geerntet. Aus den Kreuzungen der Vorjahre wurden ca. 6 200 Sämlinge auf dem Geilweilerhof und ca. 1 300 Sämlinge in Erlasee ausgepflanzt. Für populationsgenetische Untersuchungen wurde ein Teil der aus den Kreuzungen von 1994 und früher hervorgegangenen Sämlinge einem starken Befallsdruck von *Plasmopara* bzw. *Oidium* ausgesetzt. Bei diesem massiven Befallsdruck wiesen lediglich 2 % der Sämlinge bei *Oidium* und 1 % der Sämlinge bei *Plasmopara* keinen oder nur einen sehr geringen Befall auf. Die Ergebnisse geben wertvolle Hinweise zur Vererbung der Resistenzeigenschaften bei den eingesetzten Kreuzungseltern. 20 aus den Sämlingsquartieren ausgelesene Zuchtstämme wurden unter Berücksichtigung der Pilzresistenz, der Weinqualität und weiterer wertbestimmender Eigenschaften in die Vorprüfung übernommen. Aus der Vorprüfung wurden 13 Zuchtstämme in die Zwischenprüfung überführt.

Insgesamt wurden 23 Anbaueignungsversuche mit pilzresistenten Neuzüchten erstellt. Dabei lag der Schwerpunkt wiederum eindeutig auf der Rotweineuzüchtung 'Regent'. Für die Neuzüchtung 'Sirius' wurde der Sortenschutz erteilt. Ferner erfolgte für die Sorten 'Sirius' und 'Regent' die Eintragung in die Sortenliste des Bundesamtes für den Sortenschutz. Für die Rebsorte 'Regent' wurde beim Europäischen Sortenschutz beantragt. Mit der Sorte 'Phoenix' wurde erstmals eine pilzresistente Rebsorte in Deutschland klassifiziert. Die Klassifizierung erstreckt sich auf die Anbaugemeinden von Rheinland-Pfalz. Nach wie vor besteht in der Schweiz ein sehr großes Interesse für die Sorte 'Regent'. Dies hatte zur Folge, daß Verhandlungen über die Abgabe der Nutzungsrechte mit einer schweizerischen Züchtergemeinschaft aufgenommen wurden und zwischenzeitlich erfolgreich abgeschlossen werden konnten.

**Abstract:**

Emphasis is placed upon the improvement of resistant vines, combined with high wine quality and high performance characteristics. For the first time, a fungus resistant white cultivar, i.e. cv. 'Phoenix', has been classified for some vinegrowing areas in Germany. We have applied for European variety protection for the red fungus resistant cultivar, named 'Regent'. The breeding features aim to reduce plant protection measures, to increase quality and yield reliability and to contribute to environmentally friendly viticulture.

(BAZ-5101)

In Zusammenarbeit mit: Forschungsanst. f. Reben und ihre Verarbeitungsprodukte, Magarach, Ukraine; Forschungsanst. f. Weinbau und Weinbereitung, Novocherkassk, Russland

190

## 5.2. Die Erhaltungszüchtung neuer Rebsorten

### Maintenance breeding of vine varieties

Eibach, R.

*Ausgewählte Einzelstöcke von Klonen pilzresistenter Neuzüchtungen werden phytosanitären Tests gegenüber Virus- und Bakterienkrankheiten unterworfen. Pflanzen, die sich als frei von Pathogenen erweisen, werden in vitro überführt. Damit ist eine Reinfektion ausgeschlossen und im Bedarfsfall eine rasche Vermehrung gesunden Pflanzgutes möglich. Die Neuzüchtungen des Institutes werden entsprechend den gesetzlichen Regelungen erhaltungszüchterisch betreut.*

Selected individual clones of fungus-resistant new varieties are subjected to phytosanitary tests to virus and bacterial diseases. Plants which prove to be pathogen-free, are transferred in vitro. This excludes a reinfection and enables a rapid propagation of the healthy plant material. Maintenance breeding of the institute's new varieties is carried out, according to national legislation.

Die Prüfung von insgesamt 24 A-Klonen pilzresistenter Neuzüchtungen wurde fortgesetzt. Für die weinbaulich

wichtigen Eigenschaften ergaben die bisherigen Ergebnisse keine signifikanten Unterschiede zwischen den Klonen der einzelnen Sorten. Die parallele Erhaltung der Klone *in vitro* schließt eine Reinfektion mit Virus- und Bakterienkrankheiten aus und ermöglicht im Bedarfsfall die rasche Vermehrung gesunden Pflanzgutes. Phytosanitär hochwertiges Material von Edelreis- und Unterlagsorten aus der *in vitro*-Kultur wurde erstmals in größerem Umfang über die Methode der Grünveredlung vermehrt. Das Pflanzgut wird für die Erstellung von Vermehrungsanlagen (Vorstufen- bzw. Basisanlagen) verwendet. Die zwischenzeitlich in die Sortenliste eingetragenen pilzresistenten Neuzüchtungen werden entsprechend den gesetzlichen Vorgaben der Rebenpflanzgutverordnung erhaltungszüchterisch bearbeitet und durch phytosanitäre Kontrollen begleitet. Der Umfang der betreuten Vermehrungsanlagen orientiert sich dabei an dem zukünftig zu erwartenden Pflanzgutbedarf der einzelnen Sorten.

**Abstract:**

Fungus resistant new varieties of our maintenance breeding program are subjected to tests concerning health and performance. In parallel, the varieties are kept *in vitro*, thus excluding a virus or bacterial reinfection. This method permits a rapid propagation of plant material at any time. The micropropagation technique of *in vitro* plants is integrated within the maintenance breeding to obtain phytosanitary high quality propagation material.

(BAZ-5102)

191

## 6. Genetische Ressourcen

### Genetic resources

#### 6.1. Die Erhaltung der genetischen Ressourcen der Rebe

##### Maintenance of genetic resources of grapevines

Eibach, R.; Dettweiler, E.; Harst, M.

*Weltweite Erfassung der Weinbauinstitute, die im Besitz eines Rebsortimentes sind. Weitere Angaben bezüglich der geographischen Lage, der Klimadaten, der Zusammensetzung des Rebsortimentes, der Erhaltungsformen, des Dokumentationsverfahrens und der Bereitschaft zum Materialaustausch werden ebenfalls erfaßt. Die Datenbank der Rebe umfaßt ca. 16 000 verschiedene Rebartensorten und -sorten, die mit den IPGRI-Paßport-Daten versehen sind. Deren Aktualisierung wird laufend weitergeführt. Wertvolle Sorten bzw. Zuchtstämme werden parallel in vitro kultiviert. Der weitere Ausbau berücksichtigt vor allem Genotypen mit züchterisch wertvollen Eigenschaften.*

*Compilation of viticultural institutes (worldwide) with grapevine collections. Furthermore, addresses, geographic sites, climatic data, composition of the grapevine collections, conservation methods etc. are specified. Approximately 16 000 cvs. are registered in the database*

for grapevines at our Institute and are provided with the IPGRI-passport data, being continuously updated. In parallel, important cultivars or strains are *in vitro* cultivated. A further extension takes into account above all genotypes with important breeding traits.

Die Datenbank der Rebe umfaßt 15 990 verschiedene Rebarten und -sorten, die mit den IPGRI-Passport-Daten versehen sind. Die Aktualisierung und Ergänzung wurde fortgesetzt. Die morphologische und phänologische Beschreibung und die Bewertung der Anbau- und Qualitätseigenschaften von ca. 130 alten Rebsorten des deutschsprachigen Raumes wurde eingeleitet. Ziel ist die Findung und Erhaltung robuster Genotypen mit hohen Qualitätseigenschaften und ihre Nutzbarmachung für die Züchtung. Die Ergänzung und Erweiterung der Sammlung genetischer Ressourcen wurde 1995 fortgesetzt. Die Rebsortensammlung wurde um insgesamt 115 Genotypen erweitert. Sie umfaßt nunmehr 2 575 Genotypen (1 000 *Vitis vinifera*-Sorten, 1 450 Sorten aus interspezifischen Kreuzungen, 125 Genotypen von 32 verschiedenen *Vitis*-Arten). Die serologische Untersuchung der Rebsortensammlung auf Viren der Reissigkrankheit und der Blattrollkrankheit ist weitgehend abgeschlossen und reduziert sich zukünftig auf Kontrollen bzw. auf neu aufgenommene Genotypen. Ca. 10 % der Genotypen wiesen ein positives Testergebnis auf. Für Sorten, von denen kein virusfreies Pflanzmaterial beschafft werden kann, wurde die phytosanitäre Sanierung über die Thermotherapie *in vitro* eingeleitet. Im *in vitro*-Sortiment des IRZ befinden sich 21 Wildarten und 25 alte Sorten. Sie werden unter reduzierten Wachstumsbedingungen (+8 °C, 10 h Lichtphase, 10  $\mu\text{Em}^{-2} \text{s}^{-1}$ ) mit 16 Exemplaren je Genotyp kultiviert. Die Untersuchungen zu den Langzeitlagerungsbedingungen von Rebsamen laufen weiter. Die Einlagerung der Samen von Wildarten (4...6 % Samenfeuchte und -21 °C Lagerungstemperatur) wurde fortgesetzt.

**Abstract:**

In the grapevine-database about 16 000 cultivars and *Vitis* species are registered and provided with the IPGRI-passport data, being continuously updated. Description and evaluation of about 130 old grapevine cultivars from German speaking areas has started, to identify and maintain robust cultivars with high quality characteristics for breeding.

(BAZ-5106)

192

**6.2. Evaluierung der genetischen Ressourcen auf züchterisch wertvolle Eigenschaften**  
**Evaluation of the genetic resources with regard to important breeding characteristics**

Eibach, R.; Dettweiler, E.

Die umfangreiche Rebsortensammlung (*Vitis* sp.) des Institutes wird im Hinblick auf züchterisch wichtige Merkmale evaluiert. Derzeit stehen dabei vor allem die weinbaulich wichtigen Pilzkrankheiten im Vordergrund. Für die Mehltaukrankheiten werden zur Ermittlung des Resistenzgrades neben Freilandhebungen auch In-

*vitro*-Tests durchgeführt. Weitere Untersuchungen zur Feststellung abiotischer Resistenzeigenschaften, z. B. gegenüber Winterfrost oder Trockenheit, sind vorgesehen. Die Evaluierung züchterisch wichtiger Eigenschaften durch Literaturrecherchen wird parallel durchgeführt. Die Ergebnisse zur Resistenz von Sorten gegenüber Pilzkrankheiten werden zusammengestellt und veröffentlicht.

The institute's extensive grapevine field collection is evaluated as to the important characteristics for breeding purposes. At present, priority is given above all to the viticulturally significant fungus diseases. For ascertaining the degree of infection of mildew diseases field evaluation, combined with *in vitro* tests, are used. Further investigations to abiotic resistance features, i.e. to winter hardiness or drought, are envisaged. In parallel, evaluation by literature of important characteristics is carried out. The results on variety resistance to fungus diseases are gathered and will be published.

Die Evaluierung züchterisch wichtiger Eigenschaften durch Literaturrecherche wurde fortgeführt. In der Rebsortensammlung des IRZ wurden die Untersuchungen zur Ermittlung der Mehltauresistenz fortgesetzt. Mehrjährige Erhebungsdaten liegen sowohl für *Oidium* als auch für *Plasmopara* vor. Die von ca. 850 Sorten aus mindestens drei Jahren vorliegenden Evaluierungsergebnisse hinsichtlich *Oidium* zeigen, daß keine oder nur sehr leichte Infektionen bei drei Genotypen am Blatt bzw. bei 33 Genotypen an der Beere festgestellt werden konnten. Starken bis sehr starken Befall wiesen an der Beere ca. 1/3 der untersuchten Genotypen auf. Bei dem Blattbefall liegt dagegen der Anteil der Genotypen in dieser Befallsklasse etwa doppelt so hoch. Frühere Ergebnisse, wonach eine enge Korrelation zwischen dem Blatt- und Beerenbefall nicht gegeben ist, wurden bestätigt. Aufgrund des 1995 im Vergleich zu den Vorjahren deutlich höheren *Plasmopara*-Infektionsdrucks waren gute Voraussetzungen für ein aussagekräftiges Freiland-Screening gegeben. Als vollkommen befallsfrei wurden 10 von insgesamt ca. 1 000 untersuchten Genotypen bonitiert. Die zwischenzeitlich vorliegenden mehrjährigen Ergebnisse ermöglichen einen sehr guten und aussagekräftigen Vergleich über den relativen Resistenzgrad der Sorten. Zur Ermittlung der Weinqualität wurden Weine von insgesamt 38 Sorten mit guten *Oidium*- und/oder *Plasmopara*-Resistenzeigenschaften ausgebaut. Genotypen mit guten Resistenz- und Leistungseigenschaften sowie guter Weinqualität werden im Zuchtprogramm als Kreuzungseltern eingesetzt.

**Abstract:**

The important breeding characteristics of grapevine species and varieties are evaluated in our comprehensive grapevine collection. Main emphasis is placed upon the resistance features to important fungus diseases and other viticulturally essential characteristics. The results are adopted immediately into our breeding programs.

(BAZ-5105)

193

**7. Dokumentation der Weinbauforschung**  
**Documentation of viticulture**  
 Klenert, M.

Etwa 400 fachwissenschaftliche Zeitschriften in über 20 Sprachen werden regelmäßig gesichtet und die relevanten Publikationen (Forschungsergebnisse aus Weinbau, Rebenzüchtung und Kellerwirtschaft) erfaßt; dies waren im Berichtsjahr ca. 1 000 Arbeiten. Mit jeweils einem englischsprachigen Referat versehen, wurden die bibliographischen Angaben als Dokumentationseinheiten (DEs) in die Literatur-Datenbank VITIS-VEA (VITIS - Viticulture and Enology Abstracts) abgespeichert; parallel hierzu wurden rd. 650 dieser DEs im Beiheft zur vierteljährlich erscheinenden Zeitschrift "VITIS - Berichte über Rebenforschung mit Dokumentation der Weinbauforschung" publiziert. Neben der Erfassung und Erschließung wissenschaftlicher Publikationen wird nun regelmäßig auch die praxisorientierte Weinbau-Literatur aus den rd. 20 deutschsprachigen Fachzeitschriften dokumentiert. Etwa 370 Artikel wurden in gleicher Form wie die wissenschaftlichen Veröffentlichungen in die angelegte Sektion "P" der Datenbank VITIS-VEA abgespeichert - allerdings mit deutschsprachigem anstatt englischsprachigem Referat. Der "Informationsdienst praxisbezogener Literatur im Weinbau" erschien vierteljährlich und enthielt in 4 Heften die o. g. etwa 370 Literaturzitate mit Referat.

Bei der Anfertigung der Referate unterstützten uns etwa 150 in- und ausländische Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen. Einige von ihnen werten darüber hinaus eine Reihe von Fachzeitschriften, die wir aus Kostengründen nicht selbst beziehen, in eigener Verantwortung aus und ermöglichen uns auch den Zugang zur sog. „grauen Literatur“. Es handelt sich dabei hauptsächlich um Publikationen aus dem osteuropäischen und asiatischen Raum (Indien, China). Durch regelmäßige Sichtung von Sekundärliteratur (gedruckte Dienste, Disketten) und gezielte Recherchen in einschlägigen Datenbanken (hauptsächlich BIOSIS) konnte die Literaturerfassung vervollständigt werden.

Die Datenbank VITIS-VEA enthält heute mehr als 34 000 DEs. Sie steht (nach vorbereitender Datenkonvertierung durch die ZADI, Zentralstelle für Agrardokumentation und -information, Bonn) beim Rechenzentrum (Host) des DIMDI (Deutsches Inst. f. Medizinische Dokumentation und Information, Köln) national für alle Interessierten für online-Recherchen zur Verfügung. Kommerziell wird die Datenbank von IFIS Publishing,

England, angeboten: als Magnetband- oder Diskettenversion zum Kauf und bei den Hosts DIALOG (USA) und STN (The Scientific & Technical Information Network, Karlsruhe) jeweils als Subfile von FSTA zu online-Recherchen.

1995 wurden über den online-Anschluß zu DIMDI und STN etwa 40 Recherchen für Wissenschaftler im Hause und für Dritte durchgeführt. Etwa 1/3 der Recherchen erfolgten in der eigenen Datenbank VITIS-VEA; andere genutzte Datenbanken waren BIOSIS, FSTA, Agricola, CAB, Chemline und Phytomed, sowie Chemical Abstracts (STN).

**Abstract:**

The documentation centre for viticulture and enology has the following main tasks: 1. Screening of ca. 400 journals for collecting scientific and technical articles of the vine and wine field worldwide. 2. Storing of the bibliographic data, indexing and abstract (in English language) of the above articles in the database. 3. Production and management of this special bibliographic database (Vitis-VEA, Viticulture and Enology Abstracts) in cooperation with IFIS Publishing, Reading, UK; annual input is ca. 1 400 literature citations (quarterly updating); Vitis-VEA contains from 1969 to present more than 34 000 citations. 4. Production of two printed versions of Vitis-VEA (4 tissues per year each): scientific review as supplement to the periodical „Vitis“ and technical review „Informationsdienst praxisbezogener Literatur im Weinbau“ (in German). 5. Online-searches in different bibliographic data bases (hosts: DIMDI, Köln and STN, Karlsruhe) carried out for scientists on request.

## V. Wissenschaftliche Zusammenarbeit Scientific Cooperation

---

### Inland

#### Inland

#### Aachen:

Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule  
Institut für Biologie I, Prof. Kreuzaler, Dr. Fischer

#### Bad Schwartau:

Saatzucht Dr. h.c. R. Carsten, Dr. Jacobi, Dr. Knopf

#### Bergholz-Rehbrücke:

Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Dr. Anger, Dr. Dongowski, Prof. Jakubeit, Dr. Täufel,  
Prof. Zunft  
Institut für Getreideverarbeitung GmbH, Dr. Thomann  
Institut für Lebensmittel- und Umweltforschung, Dr. Webers

#### Berlin:

Arbeitskreis "Zierpflanzenzüchtung", Dr. Grüneberg

#### Freie Universität Berlin

Institut für Angewandte Genetik, Prof. Odenbach, Prof. Dr. Schieder, Dr. Huancaruna-Perales  
Frau Prof. Sacristan, Frau Dr. Gerdemann, Herr Siemens

#### Humboldt-Universität zu Berlin

Fachbereich Pharmazie, Prof. Hiller, Dr. Bader  
Institut für Genetik, Prof. Börner

Institut für Genbiologische Forschung, Dr. Fisahn, Dr. Hoffmann-Benning, Prof. Willmitzer

#### Pflanzenschutzamt

Herr Braunmiller, Herr Gerlach

#### Bernburg:

Fachhochschule Anhalt, Dr. Meyer, Frau Prof. Hanrieder, Prof. Schellenberg, Frau Dr. Trench

Hochschule "Thomas Müntzer", Prof. Kratzsch, Dr. Schnüßer

#### Bielefeldt:

#### Universität Bielefeldt

Fakultät für Biologie, Lehrstuhl für Gentechnologie/Mikrobiologie, Prof. Eichenlaub  
Lehrstuhl für Genetik, Dr. Broer

#### Braunschweig:

#### Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft

Dienststelle für wirtschaftliche Fragen und Rechtsangelegenheiten im Pflanzenschutz,  
Dr. Müller

Institut für Biochemie und Pflanzenvirologie, Prof. Casper, Dr. Burgermeister, Dr. Huth,  
Dr. Lesemann, Dr. Schiemann, Dr. Smalla, Dr. J. Vetten, C. Obermeier

Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Prof. Bartels, Dr. Burgermeister,  
Dr. Flath, Dr. Mielke, Dr. Niepold, Dr. Pfeilstetter, Dr. Sachs, Dr. Schöber-Butin,  
Dr. Werres

Institut für Pflanzenschutz im Gartenbau, Dr. Brielmeier-Liebetanz, Dr. Mattusch

Institut für Pflanzenschutz im Obstbau, Dossenheim, Prof. Zeller

Technische Universität Braunschweig:  
 Institut für Allgemeine Botanik, Frau Dr. Schulze, Herr Hänsch  
 Institut für Genetik, Biozentrum, Prof. Cerff, Dr. Hehl

## Dresden:

Hochschule für Technik und Wirtschaft Dresden (FH)

Sächsische Landesanstalt für Landwirtschaft

Fachbereich Gartenbau und Landespflege mit Lehranstalt, Dr. Wackwitz, Dr. Wilcke  
 Fachbereich Integrierter Pflanzenschutz, Dr. Gebhart, Dr. Wiedemann

## Eberswalde:

Forstliche Versuchsanstalt, Prof. Majunke, Frau Möller

## Einbeck:

Kleinwanzlebener Saatzucht AG Einbeck, Dr. Mechelke

## Erfurt-Kühnhausen:

Abteilung Zierpflanzen des Blaue Liste Institutes für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Dr. Winkelmann,  
 Dr. Luthard

## Flechtingen:

Forstliche Versuchsanstalt, Dr. Kontzog, Dr. Veldtmann

## Flensburg:

Institut für Bodenkultur und Pflanzenbau, Dr. Schönberger, Frau Gebauer

## Freising:

Bayrische Landesanstalt für Bodenkultur und Pflanzenbau  
 Abteilung Pflanzenschutz, Dr. Poschenrieder

## Gatersleben:

Institut für Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung  
 Abt. Chromosomenanalyse und Cytogenetik, Prof. Schubert, Herr Fuchs  
 Abt. Molekulare Genetik, Dr. Hofemeister  
 Abt. Molekulare Zellbiologie, Dr. Conrad, Dr. Horstmann  
 Abt. Physik und Genetik, Dr. Meister  
 Genbank, Gatersleben, Prof. Hammer, Dr. Keller  
 Genbank Obst, Dresden-Pillnitz, Dr. Büttner, Prof. Fischer  
 Genbank, Groß Lüsewitz, Dr. Schüler  
 Genbank, Gülzow, Dr. Schlenker  
 Genbank, Malchow, Frau Willner  
 Dr. P. Hanelt

## Geisenheim:

Forschungsanstalt Geisenheim  
 Fachgebiet Phytomedizin, Dr. Berkelmann  
 Fachgebiet Rebenzüchtung und Rebenveredlung, Prof. Rühl  
 Fachgebiet Obstbau, Prof. Jacob

## Giessen:

Justus-Liebig-Universität  
 Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Prof. Friedt, Dr. Ordon

## Göttingen:

Georg-August-Universität  
 Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Dr. Link, Prof. Dr. Röbbelen, Dr. Stelling  
 Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Dr. Groß, Dr. Rudolph, Prof. Wolf

## Greifswald:

Ernst-Moritz-Arndt-Universität, Prof. Conrad

## Großbeeren:

Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau, Frau Dr. Krumbein

## Halle/Saale:

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg  
Landwirtschaftliche Fakultät  
Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Prof. Fuchs

## Hamburg:

Universität Hamburg  
Institut für Allgemeine Botanik, Dr. Becker, Prof. Dörffling, Prof. Heinz, Prof. Lörz,  
Prof. Wienand  
Institut für Angewandte Botanik, Prof. Lieberei, Dr. Schickedanz

## Hannover:

Bundessortenamt, Dr. Steinberger  
Prüfstelle Wurzeln, Wildenhain, Lebe

Universität Hannover  
Institut für Angewandte Genetik, Prof. Wricke  
Institut für Obstbau und Baumschule, Prof. Spethmann  
Institut für Zierpflanzenbau

## Jena:

Friedrich-Schiller-Universität  
Institut für Pharmazie, Dr. Ramm, Dr. Völksch  
Institut für Mikrobiologie, Dr. Müller, Dr. Nüske, Dr. Völksch

## Karlsruhe:

Bundesanstalt für Ernährung  
Institut für Chemie und Biologie, Dr. Bohling

Universität Karlsruhe  
Institut für Lebensmittelchemie, Prof. Niebergall, Dr. Markowitz

## Kiel:

Christian-Albrechts-Universität Kiel  
Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Prof. Feldheim, Herr Chao

## Kleinmachnow:

Biologische Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft  
Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Frau Dr. Sachs

## Köln:

Max-Planck-Institut für Züchtungsforschung, Dr. Martini, Dr. Steinbiss, Dr. Uhrig

## Konstanz:

Universität Konstanz  
Fachbereich Phytopathologie, Prof. Mendgen

## Langenbrücken:

HYBRO GbR Saatzeit, Dr. Wortmann

## Leutewitz:

DSV, Frau Schütze

- Lippstadt:  
Deutsche Saatveredlung, Lippstadt-Bremen GmbH, Dr. Feuerstein
- Magdeburg:  
Landespflanzenschutzamt Sachsen-Anhalt, Dr. Hartleb, Dr. Herold
- Mainz:  
Johann-Gutenberg-Universität, Institut für Allgemeine Botanik, Prof. Rothe
- Malchow:  
Norddeutsche Pflanzenzucht, Hans-Georg Lembke K.-G., G. Lübbe
- Markranstädt:  
Weizenstärkefabrik
- Miltitz:  
Fa. Bell, Flavor & Fragrances, Dr. Schmidt
- München:  
Technische Universität  
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Dr. Felsenstein, Prof. Fischbeck, Dr. Jahoor,  
Prof. Wenzel, Prof. Zeller  
Institut für Landwirtschaftlichen und Gärtnerischen Pflanzenbau, Lehrstuhl für Obstbau,  
Dr. Treutter, Dr. Gutmann, Dr. Mayer  
Institut für Lebensmittelchemie und Deutsche Forschungsanstalt für Lebensmittelchemie,  
Prof. Schieberle
- Oldenburg:  
Universität Oldenburg  
Fachbereich Biologie/AG Genetik, Prof. Wackernagel
- Potsdam:  
Universität Potsdam  
Fachbereich Biologie, Dr. Mittelstädt
- Quedlinburg:  
Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau und Technik, Dr. Schaefer, Herr Schreyer
- Rostock:  
Universität Rostock  
Fachbereich Biologie, Dr. Berg  
Fachbereich Biologie, Fachgruppe Phytoentomologie, Dr. Thieme  
  
Fa. Biorat GmbH, Frau Schmidt
- Söllingen:  
Fa. Strube Saatzeit, Frau Strube
- Steinbach:  
Saatzeit Steinbach GmbH, Ph. Berner
- Stuttgart:  
Landessaatzeitanstalt, Dr. v. Kittlitz, Dr. Posselt, Dr. Wang  
  
Universität Hohenheim  
Institut für Obst-, Gemüse- und Weinbau, Lehrstuhl für Weinbau, Prof. Dr. Blaich,  
Dr. Reustle, Dr. Hartmann  
Institut für Pflanzenernährung, Prof. Marschner, Prof. Römheld  
Institut für Pflanzenzüchtung, Prof. Geiger, Dr. Midaner

## Sülbeck:

Dieckmann-Heimburg Saatzucht Sülbeck, Dr. Steinrücken

## Teltow-Seehof:

Fraunhofer Einrichtung für Angewandte Polymerforschung, Dr. Radosta

## Tübingen:

Eberhard-Karls-Universität

Institut für Chemische Pflanzenphysiologie, Dr. Schilde-Rentschler

Lehrstuhl für Allgemeine Botanik, Dr. Hemleben, Dr. Ninnemann

## Weihenstephan:

Lehrstuhl für Zierpflanzenbau

Fachhochschule für Pflanzenbau

Institut für Botanik, Prof. Gerlach

**Ausland**

## Abroad

## Australien:

Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO)

Division of Horticulture, Dr. Loveys

Aufgabe: Erforschung der Trockenresistenz bei Rebsorten und -unterlagen

Waite University, Adelaide

Faculty of Agricultural and Natural Research Sciences, Department of Horticulture,

Viticulture and Oenology, Dr. Dry

Aufgabe: Erforschung der Trockenresistenz bei Rebsorten und -unterlagen

## Belgien:

Université Catholique de Louvain

Fruiteelcentrum, Dr. Keulemans

Aufgabe: Haploidenerzeugung bei Apfel

Instituut voor Scheikundig Onderzoek, Tervuren, Dr. Callebaut

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Universiteit Gent, Laboratorium voor Genetika, Gent, Dr. Depicker

Aufgabe: Antikörper in Pflanzen

## Bulgarien:

"Maritsa"-Vegetable Research Institute Plovdiv, Prof. Stamova

Aufgabe: Resistenzprüfung von Tomaten gegen bakterielle Erreger

## China:

Chengdu Institute of Biology, Chengdu, Sichuan, Prof. Li Chaoluan

Aufgabe: Studium der *Vitis*-Arten in Eurasien

Chinese Academy of Agricultural Sciences

Institute of Vegetables and Flowers, Peking, Prof. Fang, Prof. Lin

Aufgabe: Diagnose bakterieller und pilzlicher Kohlkrankheiten

## Dänemark:

Carlsberg Laboratory Copenhagen, S. Bartling, Dr. Olsen, Prof. v. Wettstein,

Danish Institute for Plant and Soil Science, Aarslev, Dr. Holme

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

University of Copenhagen, Dr. Find, Dr. Norgaard

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

#### Estland:

Laboratory of Molecular Genetics

Institute of Chemical Physics & Biophysics Tallin, Dr. J. Järvekülg

Aufgabe: Antigenanalyse und molekularbiologische Charakterisierung von Pflanzenviren

Institute of Chemical Physics & Biophysics Tallin, Dr. A. Merits

Aufgabe: Klonierung des rye grass mosaic virus

#### Finnland:

Agricultural Research Centre, Piikkio, Dr. Sorvari

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

University of Helsinki

Institute of Biotechnology, Prof. M. Saarma

Aufgabe: Molekularbiologie und Diagnose von Kartoffelviren

Department of Plant Protection, Dr. J. Valkonen

Aufgabe: Serologische und biologische Charakterisierung von Isolaten des PVA

#### Frankreich:

AFOCEL, Nangis, Dr. Bercetche

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Institut für Obstzüchtung, Angers, Dr. Cherreau

Aufgabe: Apfel-Genomkartierung, Kooperation auf dem Gebiet 'Entwicklung europäischer Apfelsorten'

INRA Angers

Institut für Phytopathologie und Phytobakteriologie, Dr. Paulin

Aufgabe: Virulenzanalyse und Resistenprüfung bei Kernobst gegen *Erwinia amylovora*

Institut für Obst- und Zierpflanzenzüchtung, Dr. Lespinasse, Dr. Parisi, Dr. Ochatt,

Dr. Patat-Ochatt, Dr. Chevreau

Aufgabe: Resistenzzüchtung bei Kernobst, Protoplastenkultur bei Kern- und Steinobst, Haploidenerzeugung bei Obst

INRA Centre de Recherches, Colmar, Dr. E. Herrbach, Dr. O. Lemaire

Aufgabe: Diagnose von Luteoviren (Beet mild yellowing virus/ Beet western yellows virus)

INRA Laboratoire de Biologie des Invertébrés, Antibes, Dr. Abad

Aufgabe: Antikörper in Pflanzen

INRA Station de Pathologie Végétale, Le Rheu, Dr. N. Cavelier

Aufgabe: Zuchtmaterial mit Resistenz *Pseudocercospora*

Université Picardie, Amiens, Dr. Sangwan

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

## Georgien:

Wissenschaftliches Forschungsinstitut für gartenbauliche Pflanzenzüchtung und Weinbau, Tiflis,  
 Prof. Tschartschwili, Dr. Sanikidse  
 Aufgabe: Evaluierung genetischer Ressourcen der Rebe  
 Vergleichende ampelographische Studien bei Reben

## Griechenland:

Institut für Obstbau, Naoussa, Dr. Manganaris  
 Aufgabe: Apfel-Genomkartierung, Kooperation auf dem Gebiet 'Entwicklung europäischer  
 Apfelsorten'

## Großbritannien:

AFRC-IGER, Dr. Morris  
 Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
 von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Horticultural Research International, Wellesbourne, Dr. King  
 Aufgabe: Apfel-Genomkartierung, Kooperation auf dem Gebiet 'Entwicklung europäischer  
 Apfelsorten'

Institute of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth, Dr. Wilkins  
 Aufgabe: Genetik der Kronenrostresistenz bei *Lolium* - Arten

University of the West England, Bristol, Dr. Hunter  
 Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
 von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

## Indonesien:

BPP Teknologi, Serpong, Dr. Priyanto  
 Aufgabe: Verbesserung der Qualitäts- und Resistenzeigenschaften von *Solanum*-Arten

## Israel:

ARO Volcani Center, Bet Dagan, Prof. B. Rakah  
 Aufgabe: Beziehungen zwischen Enzymmarkern u. der Resistenz gegen pathogene Pilze beim  
 Weizen

ARO Volcani Center, Bet Dagan, Prof. Spiegel-Roy  
 Aufgabe: Entwicklung von molekulargenetischen Markern bei *Vitis*

ARO Volcani Center, Bet Dagan, Dr. Zutra  
 Aufgabe: Vergleichende Untersuchungen und Entwicklung von Methoden zum Nachweis und  
 zur Charakterisierung von Bakterien-Pathogenen und zum Resistenz-Screening

## Italien:

ENEA, Dip. Ricerche Sviluppo Agroindustriale, Rom, Dr. Benvenuto  
 Aufgabe: Antikörper in Pflanzen

ICABO, Bologna, Prof. Sansavini, Tartarini  
 Aufgabe: Apfel-Genomkartierung, Kooperation auf dem Gebiet 'Development of the  
 European apple crop'

Istituto Agrario Provinciale, San Michele, Dr. Versini  
 Aufgabe: Aufklärung sortencharakteristischer Aromastoffe sowie unerwünschter Aromanoten

Istituto Sperimentale Floricoltura, Sanremo, Dr. Ruffoni  
 Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
 von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Universität Bologna, Dr. Berardi

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Università degli Studi di Udine, Istituto di Difesa delle Piante, Udine, Prof. Refatti

Aufgabe: Prüfung apomiktischer Apfelunterlagen auf Resistenz gegenüber MLO's

Kanada:

Agriculture Canada

Pacific Research Branch, Vancouver, Dr. DeBoer, Dr. Ellis

Aufgabe: Vergleich von Methoden zum Nachweis bakterieller Krankheitserreger in Kartoffelpflanzen und von diversen Pflanzenviren

Horticultural Research Institute of Ontario, Dr. Fisher

Aufgabe: Rebenzüchtung auf Resistenz gegen Winterfrost

Research Station Fredericton, Dr. De Jong

Aufgabe: Verbesserung der Produktqualität und des Stärkegehaltes von dihaploiden *Solanum*-Genotypen

Research Station Harrow, Ontario, Dr. Bonn

Aufgabe: Resistenzzüchtung bei Kernobst

Research Station Saint-Foy, Quebec, Dr. A. Comeau, Dr. J. P. Dubuc

Aufgabe: Entwicklung von Hafer-Basismaterial mit Toleranz gegenüber BYDV

Agriculture and Agri-Food Canada, Winnipeg, Dr. Tekauz

Aufgabe: Genomanalyse bei Gerste

Universität Guelph, Prof. Kasha

Aufgabe: Genomanalyse bei Gerste

Litauen:

Lithuanian University

Institute of Botany, Vilnius, Dr. Matelis

Aufgabe: Nachweismethoden für Pflanzenpathogene in Zuchtmaterial

Marokko:

IAV Rabat, Prof. Sadiki

Aufgabe: Isoenzymanalyse

Mexiko:

Centro Internacional de Mejoramiento de Maiz y Trigo (CIMMYT), Lisboa 27, Dr. E. Duveiller, Dr. Bertschinger

Aufgabe: Resistenzprüfung von Weizen gegen *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*  
Resistenz der Gerste gegen Gerstengelverzweigungs-Virus

Neuseeland:

Institute for Crop & Food Research, Christchurch, Dr. Pickering

Aufgabe: Hybridisierung der Gerste

Institute for Crop & Food Research, Christchurch, Dr. Conner

Aufgabe: Bakterienresistenz in transgenen Pflanzen

Horticulture & Food Research Institute of New Zealand Ltd., Palmerston North

Dr. A. Lang

Aufgabe: Weinbau, Physiologie der Beere

Untersuchung qualitätsbestimmender Faktoren in reifenden Weinbeeren

## Niederlande:

COWT, Lisse, Dr. Bouman

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

CPRO-DLO, Wageningen, Dr. den Nijs, Dr. Janse

Aufgabe: Apfel-Genomkartierung, Kooperation auf dem Gebiet 'Entwicklung europäischer Apfelsorten'

CPRO-DLO, Wageningen, Dr. Stiekema

Aufgabe: Antikörper in Pflanzen

Laboratorium voor monoklonale Antistoffen, Wageningen, Dr. Schots

Aufgabe: Antikörper in Pflanzen

Landwirtschaftliche Universität Wageningen

Abt. Entomologie, Dr. Tjallingii

Aufgabe: Elektronische Registrierung des Saugverhaltens von Aphiden

Abt. Pflanzenzüchtung, Dr. Niks, Prof. Parlevliet

Aufgabe: Quantitative Resistenz von Gerste gegen *Puccinia hordei*

Landwirtschaftliche Universität Wageningen, Dr. Emons

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Plantenzieckenkundige Dienst

Abt. Bakteriologie, Wageningen, Dr. Janse

Aufgabe: Optimierung von Methoden zum Nachweis bakterieller Krankheitserreger (*Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*, *Pseudomonas solanacearum*)

Prüfstation für Obst Wilhelmadorp, Dr. Goddrie, Dr. Kemp

Aufgabe: Resistenzzüchtung bei Kernobst

Universität Groningen, Laboratorium voor Farmacognosie, Dr. Bos

Aufgabe: Fettsäureanalytik

## Norwegen:

Agricultural University of Norway, Aas, Dr. Hvoslef-Eide, Dr. Kvaalen

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

## Österreich:

Institut für Angewandte Mikrobiologie, Wien, Dr. da Camara Machado, Dr. Kremen

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

## Polen:

Abteilung für Genetik und Gartenbauliche Pflanzenzüchtung der Landwirtschaftlichen Universität,

Warschau, Prof. Malepszy, Prof. Niemirowicz-Scytt

Aufgabe: Steuerung somatischer Embryogenese und Markeridentifikation

## Portugal:

Centro de Biotechnologia Vegetal, Lissabon, Dr. Ubach

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Faculdade de Ciencias de Lisboa, Lissabon, Prof. Pais

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Rußland:

Allruss. Forschungsinstitut für Pflanzenschutz (VIZR), St. Petersburg - Puschkin, Frau Prof. Guseva, Dr. Afanosenko, Dr. Tjuterev, Dr. Wilkowa

Aufgabe: Differenzierung pilzlicher Erreger von Gerstenkrankheiten mit Hilfe von Testsortimenten  
Entwicklung transgener Pflanzen mit Resistenz gegen Schädlinge und Krankheiten mit Hilfe biotechnologischer Methoden

Biologisches Wissenschaftliches Forschungsinstitut, Abt. Pflanzengenetik St. Petersburg.

Dr. Woylokow

Aufgabe: Genetik der Braunrostresistenz bei Roggen

Institute for Vegetable Breeding and Seed Production (VNISSOK, Odinzovo Moskauer Gebiet),

Dr. Dorokhov

Aufgabe: Charakterisierung ausgewählter Genotypen nach Protoplastenkultur u. Protoplastenfusion mittels RAPD-Marker

Institut für Allgemeine Genetik, Moskau, Dr. Ananiew

Allruss. Forschungsinstitut für Obst und Zentrales Gentechnisches Labor, Dr. Tambov

Aufgabe: Untersuchungen zu molekularen Polymorphismen bei Obsthybriden

Institute of Biorganic Chemistry Moscow, Dr. E. Sukhacheva, Dr. T. Erokhina

Aufgabe: Klonierung von Antikörpergenen

Institut für Landwirtschaft der Zentralen Schwarzerdezone, Woronesh

Aufgabe: Identifizierung von Resistenzgenen beim Roggen

Vavilov-Institut für Pflanzenzüchtung, St. Petersburg

Aufgaben: Nutzung genetischer Ressourcen für Streßtoleranz u. Rohstoffqualität bei Getreide u. Kartoffel

Molekulare Genomanalyse von Getreidelinien zur Erfassung neuer Resistenzquellen gegenüber Krankheiten

Vavilov-Institut für Pflanzenindustrie, Prof. Budin

Aufgabe: Nutzung genetischer Ressourcen bei der Kartoffel

Vavilov-Institut für Pflanzenindustrie, Dr. Gavrilenko

Aufgabe: Morphologische und cytologische Charakterisierung somatischer Hybriden bei *Solanum*

Wissenschaftl. Produktionsvereinigung für Wein, Rostow, Dr. Muzichenko

Aufgabe: Züchtung und genetische Ressourcen bei Wein

Forschungsinstitut für Weinbau und Weinbereitung, Novoherkassk

Aufgabe: Austausch von genetischem Material und gemeinsames Zuchtprogramm

Schweden:

Katrineberg Htrg AB, Froevi, Dr. Heeger

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

The Swedish University of Agricultural Sciences, Svalöv, Prof. T. Bryngelsson

Aufgabe: Identifizierung postinfektioneller Proteine in Gerste

## Schweiz:

Eidgenössische Forschungsanstalt für Obst-, Wein- und Gartenbau, Wädenswil, Dr. Gysi, H. P. Buser,  
Dr. Kellerhals, Dr. Theiler-Hedtrich

Aufgabe: Allium-Brassica-Projekte

Apfel-Genomkartierung, Kooperation auf dem Gebiet 'Entwicklung europäischer  
Apfelsorten'

COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

In-vitro-Kulturtechniken bei Obstarten

Resistenzzüchtung bei Kernobst

RAC-Changins, Nyon, Dr. Collet

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

## Spanien:

Facultad de Biología, Universidad de León, Prof. Perez de la Vega

Aufgabe: Aktualisierung und Vervollständigung der Genkarte des Roggens

## Südafrika:

Universität Stellenbosch

Institut für Oenologie und Forschungsinstitut für Weinbau und Kellerwirtschaft, Prof. van Wyk,  
Dr. Marais

Aufgabe: Aufklärung sortencharakteristischer Aromastoffe

## Tschechien:

Institute of Organic Chemistry and Biochemistry, Prag, Dr. Vanek

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Research Institute for Crop Production (RICP), Prag, Prof. Kudela, Dr. Polak, Dr. Kratka

Aufgabe: Serologische Erfassung von pflanzenpathogenen *Erwinia*-, *Clavibacter*-,  
*Pseudomonas*- und *Phytophthora*-Arten im Pflanzenmaterial

Research Institute for Crop Production (RICP), Prag, Dr. Bartos

Aufgabe: Resistenz von Winterweizen gegen Gelbrost, Braunrost und Mehltau

Research Institute for Crop Production (RICP), Prag, Dr. Vacke

Aufgabe: Resistenzuntersuchungen bei Wintergerste gegenüber dem Gelbverzwergungs-Virus  
(BYDV)

Research Institute for Crop Production (RICP), Prag, Dr. Kokošková

Aufgabe: Virulenzanalyse von *Erwinia amylovora*-Stämmen

## Türkei:

Universität Ankara

Institut für Lebensmittelchemie und Lebensmitteltechnologie

Aufgabe: Beeinflussung der charakteristischen Aromakomponenten durch Enzymbehandlung  
des Weines

## Ukraine:

Wiss. Forschungsanstalt für Reben und ihre Verarbeitungsprodukte, Magarach, Dr. Troshin

Aufgabe: Vergleichende ampelographische Studien

## Ungarn:

Agricultural Research Institute, Mrtónvasar, Dr. Kovács

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung  
von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Research Institute for Viticulture and Enology, Kecskemet, Dr. Szegedi

Aufgabe: Untersuchungen zur Maukekrankheit bei Reben (*Agrobacterium tumefaciens*)

USA:

Colorado-State University, Forth Collins, Prof. Brown

Aufgabe: Gelbrostresistenz und Resistenzprüfung bei Sommergerste

Montana State University, Bozeman, Abt. Pflanzenpathologie, Prof. Johnston

Aufgabe: Virulenzanalyse und Resistenzprüfung bei Gerste gegen *Puccinia striiformis*

USDA, Appalachian Fruit Research Station, Kearneysville, Dr. T. van der Zwet

Cornell Univ., Geneva N.Y, Dr. T. Burr, Prof. Dr. Aldwinckle

Aufgabe: Züchtung von feuerbrandresistenten Apfelsorten

Cornell University, New York State Agricultural Experiment Station, Dept. of Plant Pathology,  
Dr. Norelli

Aufgabe: Bakterienresistenz (Feuerbrand) in transgenen Äpfeln

## VI. Veröffentlichungen Publications

### Institut für Zierpflanzenzüchtung Institute for Ornamental Plant Breeding Ahrensburg

- CHAANIN, A.: Nährstoffmangelsymptome bei Rhododendron - Ergebnisse von Hydrokultur-Kurzzeitversuchen, Jahrbuch der Deutschen Rhododendron-Gesellschaft, Bremen, 1994, 94-103
- CHAANIN, A.; PREIL, W.: Kann Ammonium-betonte Düngung die Kalk-Chlorose bei Rhododendron verhindern? BDGL Schriftenreihe **13**, 1995, S. 13
- DEBENER, T.: Stand der Forschung bei Gentechnik an Zierpflanzen. Taspo Gartenbaumagazin **11**, 1995, 6-8
- GROTKASS, C.; LIEBEREI, R.; PREIL, W.: Polyphenoloxidase-activity and -activation in embryogenic and non-embryogenic suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima*. Plant Cell Report, **14**, 1995, 428-431
- KRÜGER, J.: Mehltreueresistenzzüchtung beim Apfel in Ahrensburg: Quellen und deren Beständigkeit. Gartenbauwissenschaft **60**, 1995, 269-275
- LOHSE, B.; PREIL, W.: Interessante Vertreter der Melastomataceae. Deutscher Gartenbau, **49**, 1995, 1361-1362
- MARKUSSEN, T.; KRÜGER, J.; SCHMIDT, H.; DUNEMANN, F.: Progress in mapping a gene for powdery mildew resistance in apple. Eucarpia Fruit Breeding Section Newsletter No. 1, 1995, 15
- PREIL, W.: In memoriam R. Reimann-Philipp. Angewandte Botanik, **69** (3/4), 1995
- PREIL, W.: In vitro Kultur von Poinsettien. In: Poinsettien (3. Aufl.), TASPO Schriftenreihe der Lehr- und Versuchsanstalten, 1995, 42-58
- SCHEEWE, P.: Rote Wurzelfäule bei Erdbeeren. Obstbau **20**, 1995, 492-494
- SCHMIDT, H.: Drei neue resistente Apfelsorten aus Ahrensburg. Obstbau **20**, 1995, 536-537
- SCHMIDT, H.: Quo vadis Obstzüchtung?. Obstbau **20**, 1995, 612-613
- SCHUM, A., BAUMUNK-WENDE, E.; STÖLDT, A.: Development of methods for breeding of F<sub>1</sub> hybrids with resistance to leek yellow stripe virus in *Allium porrum* L. Alliums Improvement Newsletter Nr. 4, 1995, 42-44
- STÖLDT, A.; SCHUM, A.: In vitro polyploidization of *Allium* species. Allium Improvement Newsletter Nr. 4, 1995, 31-33
- WINKELMANN, T.; GRUNEWALDT, J.: Analysis of protoplast-derived plants of *Saintpaulia ionantha* H. Wendl. Plant Breeding **114**, 1995, 346-350
- WINKELMANN, T.; GRUNEWALDT, J.: Genotypic variability for protoplast regeneration in *Saintpaulia ionantha* (H. Wendl.). Plant Cell Reports **14**, 1995, 704-707
- WIRTH, H.; SCHULZE, M.: Befruchtersorten bei Äpfeln. Obstbau **20**, 1995, 379-381

### Institut für Resistenzforschung Institute for Resistance Research Aschersleben

- KASTIRR, U.; EHRIG, F.; SCHUBERT, J.; SCHÜTZE, U.: Occurrence and identification of *Mastigosporium* species and development of a method for early selection of *Dactylis* breeding material with resistance against *Mastigosporium muticum*. Abstr. 2. Conference on Harmful and Beneficial Microorganisms in Grassland, Pastures and Turf, Universität Gesamthochschule Paderborn 1995, 25
- KASTIRR, U.; GIPPERT, R.; SPICHER, J.: Erstnachweis der Rizomania an Zuckerrüben in Sachsen-Anhalt. Nachrichtenblatt Deutscher Pflanzenschutzdienst, **47**, 1995, 245

- KEGLER, H.; EHRIG, F.; SIEBECKE, E.; KLEINHANN, C.; FUCHS, E.: Zur Virusresistenz des Basilienkrautes (*Ocimum basilicum* L.). Drogenreport **8**, 1995, 29-33
- KEGLER, H.; FUCHS, E.; KNAPP, H.-D.; EHRIG, F.: Untersuchungen zum Vorkommen pflanzenpathogener Viren im Naturschutzgebiet Insel Vilm (Biosphärenreservat Südost-Rügen). Arch. Phytopath. Pflanzenschutz **29**, 1994, 211-216
- NACHTIGALL, M.: Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Weizen nach Befall mit Xanthomonaden aus der „*translucens* Gruppe“. Phytomedizin **2**, 1995, 17-18
- NACHTIGALL, M.; KRÄMER, I.; KOPAHNKE, D.: Identifizierung und Charakterisierung von *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. Isolaten unter Nutzung von biologischen, biochemischen und molekularbiologischen Verfahren, Arch. Phytopathol. Pflanzenschutz **30**, 1995, 119-131
- OBERMEIER, C.; PFEILSTETTER, E.; KASTIRR, U.; LESEMANN, D.-E.; BURGERMEISTER, W.: Detection of *Polymyxa betae* in sugarbeet roots by molecular techniques. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 366-369
- REISS, E.: Mikrobielle Krankheitsresistenz der Pflanzen. Nachrichten BAZ **3**, 1995, 14-17
- REISS, E.: Protein patterns of barley leaves in response to net blotch infection and to some other stressors. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 374-377
- SCHUBERT, J.: Herstellung und Einsatzmöglichkeiten von Antiseren gegen gentechnisch erzeugte Virusproteine. Nachrichten BAZ **3** (1), 1995, 11-14
- SCHUBERT, J.; RABENSTEIN, F.: Sequence of the 3'-terminal region of the RNA of a mite transmitted potyvirus from *Hordeum murinum* L. European Journal of Phytopathology **101**, 123-132
- SCHUBERT, J.; RABENSTEIN, F.; PROLL, E.: Sequence of the 3'-part of the RNA of ryegrass mosaic potyvirus. Agronomie **15**, 1995, 447-452
- SCHUBERT, J.; RABENSTEIN, F.; PROLL, E.: Detection of leek yellow stripe potyvirus in leek plants using an antiserum obtained against the recombinant coat protein. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 156-159
- TIMPE, U.; KÜHNE, T.: *In vitro* transcripts of a full-length cDNA of a naturally deleted RNA2 of barley mild mosaic virus (BaMMV) replicate in BaMMV-infected plants. J. Gen. Virol. **76**, 1995, 2619-2623

## Institut für Pathogendiagnostik Institute for Pathogen Diagnostics Aschersleben

- ANDREJEVA, J.; MERITS, A.; KIBE, K.; PUURAND Ü.; RABENSTEIN, F.; JÄRVEKÜLG, L.: Molecular cloning, sequencing, and homology studies of potato virus A (PVA) helper component gene from aphid transmissible (AT) and non-aphid transmissible (NAT) isolates. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 51-54
- GABLER, J.: Detection of *Phytophthora nicotianae* in *Nicotiana* spp. by indirect ELISA-first results. EPPO Bulletin **25** (1/2), 1995, 133
- GABLER, J.: Resistenzbewertung im Pathosystem *Saintpaulia/Phytophthora nicotianae* mittels ELISA und Symptombonitur. Mitt. Dtsch. Phytomed. Ges. **25** (3), 1995, 20-21
- GABLER, J.; BRAUN, U.: *Oidium pseudolongipes* spec. nov. Arnoldia **10**, 1995, 14-16
- GABLER, J.; URBAN, M.: Evaluation of resistance differences between tomato cultivars of *Phytophthora nicotianae* by indirect ELISA. J. Pl. Dis. Protect. **102** (3), 1995, 275-283
- JÄRVEKÜLG, L.; ANDREJEVA, J.; MERITS, A.; KIBE, K.; RAUDSEPP, R.; PUURAND Ü.; RABENSTEIN, F.; SAARMA, M.: Studies of potato viruses: Antigenic analysis, structure, transmission, and detection. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 108-111
- KRÄMER, I.; GRIESBACH, E.: Use of ELISA for detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato. Bulletin OEPP/EPPO Bulletin **25**, 1995, 185-193

- LEISTNER, H.-U.; KRÄMER, R.; KRETSCHMANN, M.: Cytological characterization of *Hordeum vulgare* L. under the influence of a toxin produced by *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. *Microbiol. Res.* **150**, 1995, 281-289
- MERITS, A.; ANDREJEVA, J.; KIBE, K.; RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; Järvekülg, L.: 3' terminal sequence analysis and homologies for two members of genus rymovirus (Potyviridae). *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 120-123
- MÜLLER, P.; KRÄMER, I.: Potato brown rot - issues in the European Union and results of serological tests. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 247-250
- NAUMANN, K.: 75 Jahre phytopathologische Forschung in Aschersleben. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 23-39
- NAUMANN, K.; SCHMIDT, H.B.: Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Buschbohnen gegen *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. *Phytomedizin* **25**, 16-17
- OWOLABI, A.T.; PROLL, E.; RABENSTEIN, F.: A potyvirus induced leaf curl disease of *Celosia argentea* in Nigeria. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 124-127
- PUURAND, Ü.; VALKONEN, J.; MÄKINEN, K.; RABENSTEIN, F.; SAARMA, M.: Characterization of the infectious *in vitro* transcripts from cloned cDNA of the potato A potyvirus. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 133-136
- RABENSTEIN, F.; GRAICHEN, K.; PROLL, E.; HERRBACH, E.; LEMAIRE, O.: Detection of a second distinct strain of beet western yellows luteovirus in oilseed rape using monoclonal antibodies. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 137-140
- RICHTER, J.; RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; VETTEN, H.-J.: Use of cross-reactive antibodies to detect members of the Potyviridae. *J. Phytopathol.* **143**, 1995, 459-464.

## Institut für Epidemiologie und Resistenz Institute for Epidemiology and Resistance Aschersleben

- EISBEIN, K.; GRIESBACH, E.: Electron microscopical investigations for resistance induction against bacterial canker of tomato. *Züchtungsforschung - Berichte a.d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 222-225
- GEISSLER, K.: Application and importance of insect pathogenic viruses in respect to Integrated Pest Management (IPM). *Integrated Crop Prot. Proc. No. 63*, Edinburgh, 1995, 215-220 (Poster)
- GEISSLER, K.: Anwendung und Bedeutung insektenpathogener Viren im integrierten Pflanzenschutz. *Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz* **29**, 1995, 479-483
- GEISSLER, K.; SCHLIEPHAKE, E.; KARL, E.: Zum Massenwechsel von Getreideaphiden und zu ihrer Bedeutung als Vektoren des Gerstengelverzweigungs-Virus (BYDV) in Mitteleuropa - eine Übersicht. *Arch. Phytopathol. u. Pflanzenschutz* **30**, 1995, 99-107
- GRAICHEN, K.: Winterraps - keine Infektionsquelle für das Milde Rübenvergilbungs-Virus. *Raps* **13**, 1995, 104-107
- GRAICHEN, K.: Zur Bedeutung von Virusbefall für den Anbau von Winterraps und Leindotter. *Mitt. Biol. Bundesanst. Land- u. Forstwirtschaft* **H 310**, 1995, 102-108
- GRAICHEN, K.; PETERKA, H.: Evidence of resistance to beet western yellows virus in oilseed rape. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 87-90
- GRAICHEN, K.; RABENSTEIN, F.: Comparison of the host ranges of luteovirus isolates from oilseed rape and sugar beet for the assessment to their occurrence in both crops. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 91-94
- GRIESBACH, E.; EISBEIN, K.; KRÄMER, I.: Induction of resistance to bacteria canker of tomato by preimmunization. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 226-229

- HABEKUSS, A.: Evaluation of winter barley for resistance to barley yellow dwarf virus. *Genetica Pol.* **35B**, 1995, 199-202
- HABEKUSS, A.: Results of ten-year selection of winter barley for tolerance to barley yellow dwarf virus. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 99-103
- HABEKUSS, A.; KOPAHNKE, D.; WALTHER, U.: Sammlung phytopathogener Pilze und Viren am Institut für Epidemiologie und Resistenz in Aschersleben. *Nachrichten aus der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen* **2**, 3, 1995, 20-22
- KANDAWA, M.-A.; PROESELER, G.; HABEKUSS, A.; MICHEL, M.: Use of genetic markers to characterize selfed progenies of a *Hordeum bulbosum* x *Hordeum vulgare* hybrid. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 339-342
- KOPAHNKE, D.; NACHTIGALL, M.: Investigation of enzyme activities - a possibility to determine the resistance of barley genotypes to *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995 347-350
- OBST, A.; SACHS, E.; GEBHART, C.; APPEL, J.; BEER, E.; HABEKUSS, A.; KIEWNICK, L.; ZIMMERMANN, H.: Die häufigsten Blattflecke bei Gerste. *Pflanzenschutzpraxis* Heft 2, 1995, 21-28
- PROCHNOW, J.; WALTHER, U.: Characterization of the relationship of isolates of the *Puccinia hordei* Otth collection in the Institute of Epidemiology and Resistance in Aschersleben. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 370-372
- PROESELER, G.: Bedeutung der Resistenzzüchtung für den integrierten Pflanzenschutz. *Nachrichten aus der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen*, Sonderheft, 1995, 9-14
- PROESELER, G.: Prospects for continued virological collaboration between Kostinbrod and Aschersleben. *Plant Science, Sofia* **32**, 4, 1995, 10-12
- PROESELER, G.; EPPLER, A.: 80<sup>th</sup> anniversary of the birthday of Professor Maramorosch. *Z. Pflanzenkrankh. u. Pflanzenschutz* **102**, 1995, 1
- RICHTER, K.; FISCHER, C.; GIERZ, E.: Resistance evaluation of apple breeding material against fire blight (*Erwinia amylovora*). *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 255-257
- SCHLIEPHAKE, E.; GEISSLER, K.: Evaluation of cereals with resistance to aphids. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 402-405

## Institut für Obstzüchtung

### Institute for Fruit Breeding

Dresden

- FISCHER, C.: 'Rewena' - völlig befallsfrei. Nochmals zur Frage: "Pillnitzer Apfelsorten doch nicht resistent?" *Der Praktische Gartenratgeber*, **1**, 1995, 19-21
- FISCHER, C.: Resistente Apfelsorten aus Pillnitz. Reglindis - eine mehrfachresistente Frühherbst-Apfelsorte. *Obstbau* **20**, 1995, 7, 334-335
- FISCHER, C.: Neue Apfelsorten. Öffentliche Ausschreibung von Neuzüchtungen. *Obstbau* **20**, 1995, 8, 382
- FISCHER, C.: Recherche de résistances à la tavelure du pommier; Résultats et stratégie pour assurer la stabilité de la résistance. *Revue suisse de viticulture arboriculture horticulture* **27**, 1995, 4, 201-207
- FISCHER, C.: Beschreibung von 59 Apfelsorten. In: FISCHER, M.: *Farbatlas Obstsorten*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, 1995, 32-89
- FISCHER, C.; RICHTER, K.: Breeding for fire blight resistance within the multiple resistance breeding programme in apples. *Proceedings, 7th International Workshop on Fire Blight*, St. Catharines, Canada 07.-10. 08. 1995, 76
- FISCHER, M.; FISCHER, C.: Resistente neue Tafeläpfel. *Gartenpraxis* 1995, 10, 44-47.
- FISCHER, M.; FISCHER, C.: Using genetic resources of *Malus* for the Pillnitz apple breeding programme. *Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl.* **1** (2), 1995, 300-303

- HANKE, V.: Biotechnologie in der Obstzüchtung: Haben sich Visionen erfüllt? Nachrichten aus der BAZ 3 (1), 1995, 5-10
- HANKE, V.; KRIEGHOFF, O.: *Podosphaera leucotricha* (Ell. et Ev.) Salm.: Screening shoot cultures of *Malus* genotypes for resistance by in vitro inoculation. Eucarpia Fruit Breeding Section Newsletter 1, 1995, 17
- HÖFER, M.: In-vitro-Androgenese bei Apfel. Gartenbauwissenschaft 60, 1995, 12-15
- HÖFER, M.; GRAFE, C.: Characterization of the regeneration phase and of the regenerated shoots from anther culture in apple. EUCARPIA Fruit Breeding Section Newsletter No. 1, 1995, 16
- SCHREIBER, H.; HABEKUSS, A.: Somatic changes occurred synchronously at several loci of barley (*Hordeum vulgare* L.) Barley Genetics Newsletter 24, 1994, 90-91
- SCHUBERT, V.; SCHUMANN, E.; BLÜTHNER, W.A.; EDOSSA, A.; OERTEL, C.; WEIDNER, A.; FOLTYS DE GARCIA, E.; SCHUSTER, M.: Progress report of the cytogenetic group. EVAC-Newsletter, 1994, 77-88
- WOLFRAM, B., MIHATSCH, G.: Zwei frühreifende Süßkirschensorten aus Dresden-Pillnitz. 'Naprumi' und 'Naresa'. Obstbau 20, 1995, 337-338

## Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

### Institute for Breeding of Crop Plants

Groß Lüsewitz

- DARSOW, U.: Using wild species in breeding of basic potato material with high resistance to late blight. In: Dowley, L.J.; E. Bannon, L.R. Cooke, T. Keane, E. O'Sullivan: *Phytophthora infestans* 150. Boole Press Ltd Dublin 1995, 275-281
- GAVRILENKO, T.; SONNTAG, K.; THIEME, R.; TIEMANN, H.: Cytogenetical and phenotypical variability studies in somatic hybrids of potato. Solanacea Newsletter 4 (1), 1994, 48
- THIEME, R.; DARSOW, U.; GAVRILENKO, T.; SONNTAG, K.; TIEMANN, H.: Interspecific somatic hybridization between cultivated potato (*Solanum tuberosum*) and wild potato species from *Pinnatisecta* and *Bulbocastana* series. Solanaceae Newsletter 4 (1), 1994, 49
- THIEME, R.; DARSOW, U.; GAVRILENKO, T.; TIEMANN, H.: Experiments in transfer of resistance to *Phytophthora infestans* from wild potato species into breeding lines of *Solanum tuberosum* via somatic hybridization. 47. International Symposium on Crop Protection, Faculteit Landbouwkundige en Toegepaste Biologische Wetenschappen, Universiteit Gent, 1995, 85 (Abstract)
- THIEME, R.; GRIESS, H.; TIEMANN, H.: Use of somaclonal variation for the production and adapted cultivars of potato. XIV. Eucarpia Congress, Jyväskylä, 31.7.-4.8.1995, 85 (Abstract)
- THIEME, T.; THIEME, R.: Adaptation of aphids to the biochemical defence of *Lupinus* spp. XIV. Eucarpia Congress, Jyväskylä, 31.7.-4.8.1995, 52 (Abstract)
- TIEMANN, H.: Selektion von 2x-Kartoffelgenotypen auf Chips- und Pommes frites-Qualität während mehrmonatiger Lagerung bei 4 °C. Granum-Verlag, Detmold, Band 16, 1995, 10-17
- TIEMANN, H.; ZIELKE, R.; LANGERFELD, E.: Identification and utilization of soft rot resistance in dihaploid potatoes. Züchtungsforschung: Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. 1 (2), 1995, 262-265
- TIEMANN, H.: The use of dihaploids in a potato breeding programme via sexual polyploidization. 79. PAA-Meeting in Bangor, Maine, 1995, 26 (Abstract)

## Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

### Institute for Breeding Methods of Crop Plants

Groß Lüsewitz

- LINZ, A.; SCHOLZ, M.; WEHLING, P.: Investigations for resistance of rye to leaf rust (*Puccinia recondita* f. spec. *secalis* Rob. ex. Desm.). Züchtungsforschung: Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 355-358
- MICHEL, M.: Übertragung von *H. bulbosum* - Resistenzgenen gegenüber Mehltau und Gerstengelbmosaikvirus in die Kulturgerste. Vorträge für Pflanzenzüchtung **31**, 1995, 78-79
- SCHOLZ, M.; LINZ, A.: Identification of markers for leaf rust resistance in rye. Züchtungsforschung: Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 382-385
- PICKERING, R. A.; HILL, A. M.; MICHEL, M.; TIMMERMAN-VAUGHAN, G. M.: The transfer of a powdery mildew resistance gene from *Hordeum bulbosum* L. to barley (*H. vulgare* L.) chromosome 2 (2I)

## Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität Institute for Stress Physiology and Quality of Raw Materials Groß Lüsewitz

- BALKO, C.; STELLING, D.; LARHER, F.; SEDDING, S.; v. KITTLITZ, E. JÜRGENS, H.-U.: Investigations into selection for drought tolerance in *vicia faba* L. Proceedings, Interdrought 1995, 31.08.-02.09.95, Montpellier, Frankreich, X 2 (Abstract)
- BARTLING, S.; WEGENER, C.: Synergistic degradation of pectate and pectin by *Erwinia* pectatelyase isoenzymes. Carbohydrate Bioengineering Meeting, 23.04.-26.04.95, Helsingor, Dänmark, 240 (Abstract)
- BARTLING, S.; WEGENER, C.; OLSEN, O.: Synergism between *Erwinia* pectate lyase isoenzymes that depolymerize both pectate and pectin. Microbiology **141**, 1995, 873-881
- BARTLING, S.; DERKX, P.M.F.; WEGENER, C.: Action pattern analyses of products released by *Erwinia carotovora* pectolytic enzymes that degrade pectate and pectin. Abstracts Internat. Symp. „Pectins and Pectinases“, Wageningen, 1995, 33 (Abstract)
- FLAMME, W.; JANSEN, G.; DILL, P.: Züchtungsforschung an Stärkepflanzen für den Non-food-Bereich - Methoden und Ergebnisse. Proceedings der 10. Internationalen Tagung zu Problemen der Getreideverarbeitung, 04.09.-05.09.95, Bergholz-Rehbrücke, 310-346
- DILL, P.; BALKO, C.: The influence of genotype and donor plant on the nitrogen efficiency of DH-lines of winter rape. Proceedings, Internationale Rapeseed Congress, 04.07.-08.07.95, Cambridge, Großbritannien, 3, 813-815 (Abstract)
- TÄUFEL, A.; FLAMME, W.:  $\alpha$ -Amylase inhibitors of rye: factor for quality and resistance. Progress in plant polymeric carbohydrate research. Ed. by F. Meuser, D. J. Manners and W. Seibel, 1995, 25-28
- WEGENER, C.; BARTLING, S.; OLSEN, O.: *Erwinia carotovora* - the role of its pectate lyases in soft rot pathogenesis. Züchtungsforschung: Ber. a. d. Bundesanst. f. züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 274-277
- WEGENER, C.; BARTLING, S.; WEBER, J.: Transgenic potatoes that express an *Erwinia* pectate lyase isoenzyme. Abstracts Internat. Symp. „Pectins and Pectinases“, Wageningen, 1995, 34 (Abstract)

## Institut für Resistenzgenetik Institute for Resistance Genetics Grünbach

- ASSANI, A.: Needs in potato quality in West-Africa. Potato Res. **37**, 1994, 332 (Abstract)
- BACKES, G.; GRANER, A.; FEROUGHI-WEHR, B.; FISCHBECK, G.; WENZEL, G.; JAHOR, A.: Localization of quantitative trait loci (QTL) for agronomic important characters by the use of a RFLP map in barley (*Hordeum vulgare* L.). Theor. Appl. Genet. **90**, 1995, 294-302
- BAUER, E.; GRANER, A.: Basic and applied aspects of molecular analysis of the *ym4* virus resistance gene in barley. In: Unifying Plant Genomes: Comparisons, Conservation and Collinearity. Queens' College, Cambridge, 1995, Nr P 20 (Poster-Abstract)

- BAUER, E.; GRANER, A.: Applied and basic aspects of molecular analysis of virus resistance genes in barley. Proceedings Intern. Triticeae Mapping Initiative, Norwich P2 (Abstract)
- FOROUGH-WEHR, B.; LIND, V.; ZÜCHNER, S.; RABENSTEIN, F.: Different assessment techniques of leaf blotch (*Rhynchosporium secalis* (OUD.) J. Davis) in winter barley after artificial inoculation. J. Phytopathology **143**, 1995, 553-559
- FREI, U.: Multifusions. Potato Res. **37**, 1994, 338 (Abstract)
- GRANER, A.: RFLP map development and mapping of disease resistance genes in barley. Plant Genome III, San Diego, 1995, Nr. P 76 (Poster-Abstract)
- GRANER, A.: Pflanzenzüchtung im Wandel - Molekulare Markertechniken bei der Gerste. Forschungs Report BML, **12**, 1995, 8-10
- GRANER, A.; BAUER, E.; KELLERMANN, A.; PROESELER, G.; WENZEL, G.; ORDON, F.: RFLP analysis of resistance to the barley yellow mosaic virus complex. Agronomie **15**, 1995, 475-479
- HOFFERBERT, H.R.; WENZEL, G.: Using dihaploids in a practical German breeding programme. Potato Res. **37**, 1994, 339 (Abstract)
- HOHMANN, U.; GRANER, A.; ENDO, T.R.; GILL, B.S.; HERRMANN, R.G.: Comparison of physical maps with barley linkage maps for group 7 chromosomes. Theor. Appl. Genet. **91**, 1995, 618-626
- KELLERMANN, A.; BAUER, E.; CHOJECKI, J.; GRANER, A.: RFLP mapping of genes conferring resistance to barley mild mosaic virus (BaMMV). Plant Genome III, San Diego, 1995, Nr W 13 (Poster-Abstract)
- LIND, V.: Züchtung von Winterweizen mit Resistenz gegen den Erreger der Halmbrechkrankheit, *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton. Nachrichten aus der BAZ **3** (1), 1995, 1-5
- LIND, V.; ZÜCHNER, S.; SPANAKAKIS, A.; THIELE, A.: Analyses of interactions of wheat cultivars in tests for resistance to *Pseudocercospora herpotrichoides*. Plant Breeding **113**, 1994, 272-280
- LIU, B.-H.; KLEINHOF, A.; GRANER, A.; KASHA, K.J.: An integrated barley genome map. Plant Genome III, San Diego, 1995, Nr P 149 (Poster-Abstract)
- LÖSSL, A.: Nuclear-cytoplasm interaction in somatic hybrids. Potato Res. **37**, 1994, 341-342
- LÖSSL, A.; FREI, U.; HOFFERBERT, R.; WENZEL, G.: Somatische Genetik: Einfluß der Plasmonstruktur auf Ertragskomponenten von Kartoffelhybriden. Vortr. Pflanzenzüchtg. **31**, 1995, 64-68
- MÖLLERS, C.; FREI, U.; WENZEL, G.: Yield and yield components of tetraploid somatic potato hybrids compared to their dihaploid parents. Potato Res. **37**, 1994, 343 (Abstract)
- MOHLER, V.; GRANER, A.: Analysis of recombination in male and female gametophytes of barley (*H. vulgare*). Barley Genetics Newsletter **24**, 1995, 92-93
- ORDON, F.; BAUER, E.; DEHMER, K.J.; GRANER, A.; FRIEDT, W.: Identification of a RAPD-marker linked to the BaMMV/BaYMV resistance gene *ym4*. Barley Genetics Newsletter **24**, 1995, 123-126
- POUPARD, P.; FREI, U.; CAVELIER, N.; LIND, V.: Genetic diversity in W- and R-type populations of *Pseudocercospora herpotrichoides* based on DNA restriction fragment length polymorphisms. J. Phytopathology **143**, 1995, 99-104
- SCHMIDT, D.; GRANER, A.: Genomic organization and sequence diversity of the long terminal repeat (LTR) of the BARE-1 retrotransposon-family in barley. Barley Genetics Newsletter **24**, 1995, 24-27
- WENZEL, G.: Bedeutung der Gentechnik in der Landwirtschaft. In: Gentechnik – Seminar der Zentralen Informationsstelle Umweltberatung Bayern, Bd. 7, GSF-Bericht 25/95, München-Neuherberg, 1995, 19-23
- WENZEL, G.: Fortschritt in der Pflanzenzüchtung durch Einsatz der Gentechnik. In: Gentechnik in der Landwirtschaft, Bay. Staatsministerium Ernähr., Landw. u. Forsten, München 1995, 12-15
- WENZEL, G.: Welche Ziele hat die Gentechnik? DLG Mitteilungen **10**, 1995, 12-14
- WENZEL, G.; FREI, U.; JAHOOOR, A.; GRANER, A.; FOROUGH-WEHR, B.: Haploids – An integral part of applied and basic research. In: Terzi, M. et al. (eds.): Current Issues in Plant Molecular and Cellular Biology. Kluwer Academic Publ., Dordrecht, 1995, 127-135

## Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung Institute for Breeding of Vegetable, Medicinal and Spice Plants Quedlinburg

- DOROKHOV, D. B.; KLOCKE, E.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; NEUMANN, M.: Ispolsovanije RAPD-markerov dlja charakteristiki somatischeskych gibridov *Brassica oleracea* i *Sinapis alba*. Nautschnyje trudy po seleksii i semenovodstvu, tom 1 CK 75 - letiju instituta) pod redakcije akademika Rosselchosakademii, doktora selkoxosjaistvennyh nauk, professora V. F. Pivovarova, 1995, S. 191
- DOROKHOV, D. B.; KLOCKE, E.: Ispolsovanije RAPD-markerov v molekularnoi sistematikje semejstva *Allium*. Nautschnyje trudy po seleksii i semenovodstvu, tom 1 CK 75 - letiju instituta) pod redakcije akademika Rosselchosakademii, doktora selkoxosjaistvennyh nauk, professora V. F. Pivovarova, 1995, 189-190
- HAMMER, K.; NEUMANN, M.; KISON, H.-U.: Genetic resources of *Triticum monococcum*. International Symposium on Research and Utilization of Crop Germplasm Resources (ISRUCGR), June 1-3, 1995, Beijing, China, Abstr. S. 7
- KRÄMER, R.; KLOCKE, E.; NEUMANN, M.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; CLAUSSE, E.; HAMMER, K.: Reaction of Brassica genotypes to turnip mosaic potyvirus. ISHS Vegetable Virus Working Group- Proceedings of the 8<sup>th</sup> Conference on Virus Diseases of Vegetables, July 9-15, 1995, Prague, Czech Republic, 150-153
- RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; KLOCKE, E.; SCHOLZE, P.; KRÄMER, R.; NEUMANN, M.: Transfer of resistance by somatic hybridization in crop Brassicas. International Symposium on Research and Utilization of Crop Germplasm Resources (ISRUCGR), June 1-3, 1995, Beijing, China, Abstr. S. 26
- SCHOLZE, P.; KRÄMER, R.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; KLOCKE, E.; NEUMANN, M.; HAMMER, K.: Searches of donors with resistance to *Plasmodiophora*, *Alternaria*, *Phoma* and Turnip Mosaic Potyvirus (TuMV) in *Brassicaceae*. International Symposium on Research and Utilization of Crop Germplasm Resources (ISRUCGR), June 1-3 1995, Beijing, China, Abstr. S. 27
- SCHOLZE, P.; KRÄMER, R.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; KLOCKE, E.; NEUMANN, M.; HAMMER, K.: Utilization of genetic sources for producing resistant basic material. Intern. Symp. '75 Years of Phytopathological and Resistance Research at Aschersleben', (12.-16. Juni 1995), Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. 1 (2), 1995, 386-389
- SCHUMANN, G.; RYSCHKA, U.; SCHULZE, J.; KLOCKE, E.: Anatomy of somatic embryogenesis. In Y.P.S. Bajaj (ed.), Biotechnology in Agriculture and Forestry, Vol. 20, Somatic Embryogenesis and Synthetic Seed I, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, 1995, 71-86

## Institut für Qualitätsanalytik Institute for Quality Analysis Quedlinburg

- HAMMER, K.; KRÜGER, H.: Evaluierung der Dill (*Anethum graveolens*)-Kollektion der Genbank Gatersleben (chemische Zusammensetzung der Fruchttöle). Drogenreport 8 (13), 1995, 20 - 25
- HOBERG, E.; PANK, F.; ULRICH, D.: Qualitätsforschung und -analytik als Beitrag zur Züchtungsforschung und Züchtung an landwirtschaftlichen und gärtnerischen Kulturen. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. 1, 1995
- JUNGHANNS, W.; KRÜGER, H.: Vergleich von 9 verschiedenen Majoransorten bzw. -herkünften auf Ertragsverhalten, Blattanteil, Morphologie und Inhaltsstoffe - insbesondere Gehalt an cis-Sabinenhydrat. Herba Germanica 3 (3), 1995, 78-81
- ULRICH, D.; RAPP, A.; HOBERG, E.: Analyse des Erdbeeraromas - Quantifizierung der flüchtigen Komponenten in Kulturerdbeeraromaten und der Walderdbeere. Z. Lebensm. Unters. Forsch. 200, 1995, 217-220
- ULRICH, D.; EUNERT, ST.; HOBERG, E.; RAPP, A.: Analyse des Erdbeeraromas mittels Festphasen-Mikroextraktion. Dtsch. Lebensm. Rdsch. 91 (11), 1995, 349-351

KRÜGER, H.; ZEIGER, B.: A New Micro-Steam distillation Method for the Isolation of Essential Oils, 43 rd. Annual Congress on Medical Plant Research, Halle, September 3 - 7, 1995, Tagungsband S.100-101

## Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse Institute for Breeding Methods in Vegetables Quedlinburg

- BÖRNER, T.; LINKE, B.; NOTHNAGEL, T.; SCHEIKE, R.; SCHULZ, B.; STEINBORN, R.; BRENNICKE, A.; STEIN, M.; WRICKE, G.: Inheritance of nuclear and cytoplasmic factors affecting male sterility in *Daucus carota*. In: U. KÜCK and G. WRICKE : Genetic Mechanisms for Hybrid Breeding , Advances in Plant Breeding **18**, 1995, 111-122
- CHAO, J.; HOBERG, E.; CLAUß, E., FELDHEIM, W.: Vitamin C-Gehalt und sensorische Eigenschaften neuer Gemüse-Pflanzen aus Art- und Gattungskreuzungen bei Brassicaceen - zweite Mitteilung der Versuchsergebnisse Tagungsbericht DGQ (Pflanzliche Nahrungsmittel) e. V., 1995, Heilbronn, 209-219
- CLAUß, E.; SCHUETZE, W.; ULRICH, D.: Untersuchungen zur Qualitätsbewertung neuartiger Brassicaceen-Bastarde- charakterisiert durch Glucosinolat- und Fettsäurespektrum. Tagungsbericht DGQ (Pflanzlicher Nahrungsmittel) e. V., 1995, Heilbronn, 220-230
- DÜRING, K.: Genetechnological Strategies for the Generation of Antibacterial Resistances in Transgenic Plants. REDBIO '95 - Second Latin American Meeting on Plant Biotechnology, Puerto Iguazú, Argentinien, 04.-09.06.1995, Vortragsabstract
- DÜRING, K.; PORSCH, P.: A foreign lysozyme as a new tool for antibacterial resistance breeding in transgenic plants. Züchtungsforschung - Ber. a. d. Bundesanst. f. Züchtungsforsch. an Kulturpfl. **1** (2), 1995, 219-221
- HAAS, H.U.; BUDAHN, H.; ALLEWELDT, G.: In situ hybridization in *Vitis vinifera* L. *Vitis* **33**, 1994, 251-252
- STEIN, M.; NOTHNAGEL T.: Some remarks on carrot breeding (*Daucus carota sativus* Hoffm.). Review. Plant Breeding **114**, 1-11 (1995)
- STEINBORN, R.; LINKE, B.; NOTHNAGEL, T.; BÖRNER, T.: Inheritance of chloroplast and mitochondrial DNA in alloplasmic forms of the genus *Daucus*. Theoretical and Applied Genetics **91**, 632-638 (1995)

## Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof Siebeldingen

- BÜSCHER, N.; ZYPRIAN, E.: Search of molecular markers and their application in cultivar identification as well as marker-assisted selection. 6. Internationales Symposium für Rebenzüchtung, 4.-10.9.1994 (erschienen 1995), Yalta, Ukraine.
- DETTWEILER, E.: Database for grapevine varieties and -species. 6. Internationales Symposium für Rebenzüchtung, 4.-10.9.1994 (erschienen 1995), Yalta, Ukraine
- DÜRING, H.: Phytosynthesis of ungrafted and grafted grapevines: Effects of rootstock genotype and plant age. *Amer. J. Enol. Vitic.* **45**, 1994, 297-299
- DÜRING, H.; DRY, P. R.: Osmoregulation in water stressed roots: Responses of leaf conductance and photosynthesis. *Vitis* **34**, 1995, 15-17
- GROSSMANN, M.; MUNO, H.; LINSENMAYER, A.; RAPP, A.: Use of oligo-Strains Yeast Cultures to Increase Complexity of Wine Aroma. In: GOUSSARD, P. G.; ARCHER, E.; SAAYMAN, D.; TROMP, A., VAN WYK, J. (Eds.): Proc. 1st SASEV Intern. Congr., Cape Town, Südafrika, 1995, 78-81
- EIBACH, R.: Investigations about the inheritance of powdery mildew resistance for grapevine. 6. Internationales Symposium für Rebenzüchtung, 4.-10.9.1994 (erschienen 1995), Yalta, Ukraine.
- HARST, M.: Regeneration system on explants of the grapevine (*Vitis* sp.) 6. Internationales Symposium für Rebenzüchtung, 4.-10.9.1994 (erschienen 1995), Yalta, Ukraine.

- HARST, M.: Development of a regeneration protocol for high frequency somatic embryogenesis from explants of the grapevine (*Vitis* spp.). *Vitis* **34**, 1995, 27-29
- RAPP, A.; VERSINI, G.: Influence of Nitrogen compounds in Grapes on Aroma compounds of wine. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.): „Food Flavours: Generation, Analysis and Process Influence“. Elsevier, Amsterdam-New York, 1995, 1659-1694
- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines. In: Tagungsband „Geschmacksstoffe in pflanzlichen Nahrungsmitteln“. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung, 1995, 113-138
- RAPP, A.: Den Geheimnissen der Alterung des Weines auf der Spur. *Dt. Winzer-Zeitschrift* **4**, 1995, 32-35
- RAPP, A.: Die untypische Alterungsnote. *Der Deutsche Weinbau* **2**, 1995, 21
- RAPP, A.: Foreign and undesirable Flavours in Wine. In: GOUSSARD, P. G.; ARCHER, E.; SAAYMAN, D.; TROMP, A.; VAN WYK, J. (Eds.): *Proc. 1st SASEV Intern. Congr.*, Cape Town, Südafrika, 1995, 27-30
- RAPP, A.: Possibilities of Characterizing Wine Varieties by means of Volatile Flavours Compounds. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.): „Food Flavours: Generation, Analysis and Process Influence“. Elsevier, Amsterdam-New York, 1995, 1703-1722
- RAPP, A.: Volatile Flavour of Wine: Correlation between instrumental analysis and sensory Perception. In: ROTHE, M.; KRUSE, H. P. (Eds.): *Aroma Perception, Formation, Evaluation*. Eigenverlag Ernährungsforschung Potsdam, 1995, 339-368
- RAPP, A.; ENGEL, L.: Nachweis und Bestimmung von „Furaneol“ (2,5-Dimethyl-4-hydroxy-3-furanon) in Weinen von *Vitis vinifera* Sorten. *Vitis* **34**, 1995, 71-72
- RAPP, A.; MARKOWETZ, A.: Anwendung der NMR-Spektroskopie in der Weinanalytik. In: BALTES, W. (Hrsg.): „Schnellmethoden zur Beurteilung von Lebensmitteln und Rohstoffen“. Behr's Verlag Hamburg, 1995, 359-376
- RAPP, A.; VERSINI, G.: Fehl aroma: Die untypische Alterungsnote. *Der Deutsche Weinbau* **18**, 1995, 18-22
- RAPP, A.; VERSINI, G.: Flüchtige phenolische Verbindungen in Wein. *Proc. 4th Intern. Symp. Innovationen in der Kellerwirtschaft*, Stuttgart, 1995, 20-36
- RAPP, A.; VERSINI, G.; ENGEL, L.: Nachweis und Bestimmung von 2-Aminoacetophenon in vergorenen Modelllösungen. *Vitis* **34**, 1995, 193-194
- REUSTLE, G.; HARST, M.; ALLEWELDT, G.: Plant regeneration of grapevine (*Vitis* sp.) protoplasts isolated from embryogenic tissue. *Plant Cell Reports*, 1995, (in press)
- REUSTLE, G.; ALLEWELDT, G.: Progress in grapevine (*Vitis* spp.) protoplast culture. 6. Internationales Symposium für Rebenzüchtung, 4.-10.9.1994 (erschienen 1995), Yalta, Ukraine.
- SCHMIDT, B.; LAY, H.; NIEBERGALL, H.; RAPP, A.: Einflüsse von Pflanzenschutzmitteln auf sensorische Veränderungen von württembergischem Wein. I. Untersuchungen über Zusammenhänge von Pflanzenschutzmittel-Rückständen in Maischen, Traubenmosten und Weinen und deren sensorische Beurteilungen. *Die Wein-Wissenschaft* **50**, 1995, 87-93
- VERSINI, G.; NICOLINI, G.; RAPP, A.; DALLA SERRA, A.; AMADEI, E.: Topics on Aroma Compounds of Northern Italian Müller-Thurgau Wines. In: GOUSSARD, P. G.; ARCHER, E.; SAAYMAN, D.; TROMP, A.; VAN WYK, J. (Eds.): *Proc. 1st SASEV Intern. Congr.*, Cape Town, Südafrika, 1995, 35-37
- WAGNER, S.; JAKOB, L.; RAPP, A.; NIEBERGALL, H.: Untersuchungen zum nativen Gehalt an Polyolen in Wein und der möglichen Beeinflussung durch die Kellertechnologie während der Weinbereitung. *Die Wein-Wissenschaft* **49**, 1994, 247-253

## Patentanmeldungen

### Application for a patent

- CERFF, R.; DÜRING, K.; HEHL, R.; KÖHLER, U.: Ein Expressionssystem für die anaerobe Genexpression in Eukaryonten, speziell in höheren Pflanzen; deutsche Patentanmeldung, Az. 195 47 272.1, 1995
- DÜRING, K.: Inhibition von Signalmolekülen durch bindende oder katalytische Antikörper; deutsche Patentanmeldung, Az. 195 48 301.4, 1995

## VII. Lehrtätigkeit

### Academic Teaching

---

#### Institut für Zierpflanzenzüchtung

#### Institute for Ornamental Plant Breeding

Ahrensburg

|                 |                       |  |
|-----------------|-----------------------|--|
| DEBENER, T.:    | Universität Hamburg,  | "Genetisches Grundpraktikum für Biochemiker.<br>Institut für Allgemeine Botanik" |
| GRUNEWALDT, J.: | Universität Hannover, | "Spezielle gartenbauliche Pflanzenzüchtung"                                      |
|                 | Universität Kiel,     | "Zell- und Gewebekulturtechniken in der<br>Pflanzenproduktion"                   |
| PREIL, W.:      | Universität Hamburg,  | "In-vitro-Kulturen in der Pflanzenzüchtung"                                      |
| SCHMIDT, H.:    | Universität Hannover, | "Gartenbauliche Pflanzenzüchtung"  |

#### Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

#### Institute for Breeding of Crops Plants

Groß Lüsewitz

|              |                         |                               |
|--------------|-------------------------|-------------------------------|
| SONNTAG, K.: | Universität Greifswald, | "Pflanzliche In-vitro-Kultur" |
| TIEMANN, H.: | Universität Rostock,    | "Pflanzenzüchtung"            |

#### Institut für Resistenzgenetik

#### Institute for Resistance Genetics

Grünbach

|                   |   |   |
|-------------------|---|---|
| FOROUGH-WEHR, B.: | Landwirtschaftl. Lehranstalten,<br>Landsberg, | "Biotechnologie"  |
| GRANER, A.:       | Technische Universität München,               | "Biotechnologie III"                                      |
|                   | Landwirtschaftl. Lehranstalten,<br>Landsberg, | "Biotechnologie"  |
| WENZEL, G.:       | Technische Universität München,               | Ordinarius, Lehrstuhl Pflanzenbau und<br>Pflanzenzüchtung |

**Institut für Qualitätsanalytik**  
**Institute for Quality Analysis**  
 Quedlinburg

|              |                                    |  |
|--------------|------------------------------------|--|
| HOBERG, E.:  | Fachhochschule Anhalt<br>Bernburg, | "Methoden zur Geschmacksbewertung unter besonderer Berücksichtigung ihrer Anwendbarkeit im Züchtungsprozeß"  |
|              |                                    | "Ernährungsphysiologischer und gesundheitlicher Wert von Brassicabastarden unter besonderer Berücksichtigung der Glucosinolate. Anleitung von Prüfern und Durchführung des Beliebtheitstestes zur sensorischen Bewertung von Brassicabastarden nach dem Beliebtheitstest"  |
|              |                                    | "Variabilität von geschmacksbestimmenden pflanzlichen Inhaltsstoffen am Beispiel der Brassicabastarde. Probleme der Probendarreichung für die sensorische Prüfung. Anleitung von Prüfern und Durchführung des Beliebtheitstestes zur sensorischen Bewertung von gekochten Brassicabastarden nach dem Beliebtheitstest (durchgeführt in Quedlinburg)" |
| ULRICH, Dr.: | Fachhochschule Anhalt<br>Bernburg, | "Grundlagen der Aromaanalytik"   |

**Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse**  
**Institute for Breeding Methods in Vegetables**  
 Quedlinburg

|             |   |   |
|-------------|---|---|
| DÜRING, K.: | Technische Universität<br>Braunschweig, | Antrittsvorlesung im Rahmen der Umhabilitation „Molekulare Resistenzzüchtung - neue Wege zu schädlingsresistenten Kulturpflanzen“, 12.10.1995 |
|-------------|---|---|

**Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof**  
**Institute for Grapevine Breeding Geilweilerhof**  
 Siebeldingen

|              |                        |   |
|--------------|------------------------|---|
| DÜRING, H.:  | Universität Hohenheim, | "Weinbau in den Tropen und Subtropen" und Praktikum "Wasserhaushalt und Gaswechsel der Rebe"  |
| RAPP, A.:    | Universität Karlsruhe, | "Technologie, Analytik, Aromastoffzusammensetzung und gesetzliche Bestimmungen von Wein, weinähnlichen Getränken, Frucht- und Gemüsesäften" |
| ZYPRIAN, E.: | Universität Karlsruhe, | "Biologie einheimischer und tropischer Nutzpflanzen II und III"   |

## VIII. Gastwissenschaftler Guest Scientists

---

### Institut für Zierpflanzenzüchtung Institute for Ornamental Plant Breeding Ahrensburg

MISHRA, Y., Tropical Forest Research Institute Jagalpur/Indien, 04/1994-03/1995

LE, T.T., Universität Gießen, 01/1995

ABDUL-KADAR, A., Directorate of Agricultural Scientific Research, Damaskus/Syrien (über Deutsche Stiftung für internationale Entwicklung, Zschortau), 05/1995

GERTNERE, D., University of Latvia, Riga/Lettland, 05/1995

THOMPSON, Irish Forestry Boards, Newtownmountkennedy/Irland, 06/1995

AL-HUSSIN, Z., Universität Aleppo, Landwirtschaftliche Fakultät, Syrien, 09/1995

TENZER, I. ETH Zürich/Schweiz, 06/1995

BENAOUF, G., INRA, Angers/Frankreich, 09/1995

### Institut für Resistenzforschung Institute for Resistance Research Aschersleben

OERTEL, U., Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, 10-12/1995

FOMICHEVA, V. Institute of Genetics and Cytology Minsk, Academy of Sciences of Belarus, seit 11/1995

FANGBING, L., Institute of Virology, Zhejiang Medical Academy, China, seit 12/1995

### Institut für Pathogendiagnostik Institute for Pathogen Diagnostics Aschersleben

OWOLABI, A.T., University Lagos/Nigeria, 10/1994-09/1995

**Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen**  
**Institute for Breeding of Crop Plants**  
 Groß Lüsewitz

GAWRILENKO, T., Vavilov-Institut für Pflanzenbau, St. Petersburg/Rußland, 06-08/1995

**Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität**  
**Institute for Stress Physiology and Quality of Raw Materials**  
 Groß Lüsewitz

ABDUL-KADAR, A., Directorate of Agricultural Scientific Research, Damaskus/Syrien (über Deutsche Stiftung für internationale Entwicklung, Zschortau), 05/1995

**Institut für Resistenzgenetik**  
**Institute for Resistance Genetics**  
 Grünbach

ILLG, R., Universidade Estadual de Campinas, Campinas/Brasilien, 03/1994-02/1995

HALUŠKOVÁ, J., Department of Experimental Botany and Genetics, Faculty of Science, P.J. Safarik University, Kosice/Slovakei, 10/1994-07/1995

MAXIM, P., Forschungsinstitut für Getreide und Technische Pflanzen, Fundulea/Rumänien, 10/1994-07/1995

PECHAN, P., Institute for Experimental Botany, Prag/Tschechien, 09/1995-06/1996

VALKOV, V., Institute of Genetic Engineering, Kostinbrod/Bulgarien, 09/1995-02/1996

**Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung**  
**Institute for Breeding of Vegetable, Medicinal and Spice Plants**  
 Quedlinburg

DOROKHOV, D. B., All-Russian Research Institute for Vegetable Breeding and Seed Production (VNISSOK), Odinzov Region, Moscow District, 143080 Russia, 03/1995-06/1995

TITOVA, I., All-Russian Research Institute for Vegetable Breeding and Seed Production (VNISSOK), Odinzov Region, Moscow District, 143080 Russia, 06/1995

**Institut für Qualitätsanalytik**  
**Institute for Quality Analysis**  
 Quedlinburg

CHAO, J.-M., Taiwan, Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Christian-Albrechts-Universität, Kiel/BRD, 09/1993 -03/1995

TENG, S.-S., Taiwan, Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Christian-Albrechts-Universität, Kiel/BRD, 03/1995

LEHMANN, S., Fachhochschule Anhalt Bernburg, Fachbereich Landwirtschaft, Ökotrophologie, Landespflege,  
BRD, 10/1994-02/1995

## IX. Sammlung von Schaderregern

### Collection of Pathogens and Aphids

---

Im Institut für Epidemiologie und Resistenz Aschersleben werden Pathogenisolate, Pathovarietäten, Rassen bzw. Virulenzkombinationen und Aphiden in einer umfangreichen Sammlung erhalten sowie ständig durch neue Isolate ergänzt, die im Rahmen der Forschungsarbeiten nachgewiesen werden.

Die vorhandenen Virus-, Bakterien- und Pilzisolat sowie die Aphidenarten stehen vorrangig für Arbeiten in der BAZ, aber auch für Nutzer aus anderen Einrichtungen zur Verfügung.

The Institute for Epidemiology and Resistance Aschersleben has a large collection of pathogen isolates, pathotypes, races, combinations of virulences and aphids. The collection will be supplemented continuously with new isolates connected with the different research projects.

The isolates of viruses, bacteria and fungi as well as species of aphids are mainly used for studies within the BAZ, but other institutions can make use of the collection, too.

#### 1. Virussammlung

Betreuer: Habekuß, A.

| Virus /Virusgruppe  | Viren | Isolate |
|---------------------|-------|---------|
| Alfalfa mosaic      | 1     | 5       |
| Bromo               | 1     | 4       |
| Bymo                | 3     | 4       |
| Carla               | 3     | 8       |
| Carmo               | 1     | 1       |
| Caulimo             | 1     | 1       |
| Clostero            | 1     | 2       |
| Como                | 1     | 1       |
| Cucumo              | 4     | 25      |
| Diantho             | 2     | 4       |
| Furo                | 2     | 2       |
| Hordei              | 1     | 6       |
| Ilar                | 1     | 2       |
| Luteo               | 3     | 7       |
| Necro               | 1     | 2       |
| Nepo                | 7     | 19      |
| Pea enation mosaic  | 1     |         |
| Potex               | 3     | 6       |
| Poty                | 16    | 33      |
| Rymo                | 2     | 5       |
| Sobemo              | 1     | 1       |
| Tobamo              | 3     | 8       |
| Tobra               | 1     | 2       |
| Tombus              | 2     | 4       |
| Tomato spotted wilt | 1     | 5       |
| Tymo                | 3     | 4       |

## 2. Bakterienstammsammlung

Betreuer: Richter, K.

| Bakteriengattung       | -art | -unterart | Pathovarietät | Isolate |
|------------------------|------|-----------|---------------|---------|
| <i>Agrobacterium</i>   | 2    |           |               | 12      |
| <i>Arthrobacter</i>    | 10   |           |               | 11      |
| <i>Azotobacter</i>     | 2    |           |               | 2       |
| <i>Bacillus</i>        | 12   |           |               | 14      |
| <i>Brevibacterium</i>  | 4    |           |               | 4       |
| <i>Cellulomonas</i>    | 3    |           |               | 3       |
| <i>Clavibacter</i>     | 3    |           |               | 42      |
| <i>Corynebacterium</i> | 2    |           |               | 2       |
| <i>Curtobacterium</i>  | 1    | 4         |               | 7       |
| <i>Erwinia</i>         | 9    | 3         | 5             | 106     |
| <i>Escherichia</i>     | 1    |           |               | 3       |
| <i>Microbacterium</i>  | 1    |           |               | 1       |
| <i>Micrococcus</i>     | 1    |           |               | 2       |
| <i>Nocardia</i>        | 1    |           |               | 1       |
| <i>Proteus</i>         | 1    |           |               | 1       |
| <i>Pseudomonas</i>     | 12   |           | 14            | 116     |
| <i>Rhodococcus</i>     | 1    |           |               | 9       |
| <i>Serratia</i>        | 1    |           |               | 1       |
| <i>Staphylococcus</i>  | 1    |           |               | 2       |
| <i>Xanthomonas</i>     | 1    | 2         | 15            | 82      |

## 3. Pilzstammsammlung

Betreuer: Kopahnke, D., Walther, U.

### fakultative Pilze

| Pilzgattung           | Rassen | Isolate | Pilzgattung             | Isolate |
|-----------------------|--------|---------|-------------------------|---------|
| <i>Alternaria</i>     |        | 2       | <i>Fusarium</i>         | 300     |
| <i>Ascochyta</i>      |        | 25      | <i>Mycosphaerella</i>   | 9       |
| <i>Botrytis</i>       |        | 1       | <i>Phoma</i>            | 20      |
| <i>Chalara</i>        |        | 1       | <i>Phomopsis</i>        | 1       |
| <i>Cladosporium</i>   | 2      |         | <i>Phytophthora</i>     | 6       |
| <i>Colletotrichum</i> |        | 1       | <i>Pseudocercospora</i> | 2       |
| <i>Cytospora</i>      |        | 1       | <i>Pythium</i>          | 1       |
| <i>Drechslera</i>     |        | 160     | <i>Rhizoctonia</i>      | 1       |

### obligate Pilze

|                                   |    |     |
|-----------------------------------|----|-----|
| <i>Puccinia</i> -Arten (Getreide) | 50 | 187 |
|-----------------------------------|----|-----|

#### 4. Aphidenartensammlung

Betreuer: Schliephake, E.

*Acyrtosiphon pisum*

- grüne Rasse von Erbse

- rote Rasse von Saatwicke

*Aphis craccivora*

*Aphis fabae*

*Aphis frangulae gossypii*

*Aphis nasturtii*

*Aphis pomi*

*Aulacorthum solani*

*Brachycorynella asparagi*

*Brevicoryne brassicae*

*Cavariella aegopodii*

*Macrosiphonella sanborn*

*Macrosiphum albifrons*

*Megoura vicia*

*Metopolophium dirhodum*

*Myzus nicotianae*

*Myzus persicae*

*Pentatrachopus fragaefolii*

*Rhopalosiphum maidis*

*Rhopalosiphum padi*

*Semiaphis dauci*

*Sitobion avenae*

## X. Serumbank Serum Bank

---

Übersicht über die in der BAZ, Institut für Pathogendiagnostik, Aschersleben, vorhandenen monoklonalen Antikörper und polyklonalen Antiseren. Die vorhandenen Seren stehen für Arbeiten in der BAZ und für andere Forschungseinrichtungen zur Verfügung.

The BAZ Institute for Pathogen Diagnostics, Aschersleben, maintains a collection of monoclonal antibodies and polyclonal antisera. The sera are used for BAZ research projects, but they are made available to other research institutions, too.

### 1. Monoklonale Antikörper (Hybridomzelllinien)

#### 1.1. Viren

Betreuer: Rabenstein, F.

|                                 |                       |
|---------------------------------|-----------------------|
| Beet necrotic yellow vein virus | Potato virus A        |
| Beet western yellows virus      | Potato virus M        |
| Beet yellows virus              | Potato virus X        |
| Cucumber mosaic virus           | Potato virus Y        |
| Peanut stunt virus              | Ryegrass mosaic virus |
| Potato leafroll virus           |                       |

#### 1.2. Bakterien

Betreuer: Rabenstein, F.

*Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*  
*Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*  
*Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*

### 2. Polyklonale Antiseren (geeignet für ELISA)

#### 2.1. Viren

Betreuer: Rabenstein, F.; Proll, E.

|                      |                          |
|----------------------|--------------------------|
| Alfavirus            | Ilarvirus-Gruppe         |
| Bromovirus-Gruppe    | Luteovirus-Gruppe        |
| Bymovirus-Gruppe     | Necrovirus-Gruppe        |
| Carlavirus-Gruppe    | Nepovirus-Gruppe         |
| Carmovirus-Gruppe    | Pea enation mosaic virus |
| Closterovirus-Gruppe | Potexvirus-Gruppe        |
| Comovirus-Gruppe     | Potyvirus-Gruppe         |
| Crypto-Virus         | Rymovirus-Gruppe         |
| Cucumovirus-Gruppe   | Tobamovirus-Gruppe       |
| Dianthovirus-Gruppe  | Tobravirus-Gruppe        |
| Fabavirus-Gruppe     | Tombusvirus-Gruppe       |
| Furovirus-Gruppe     | Trichovirus-Gruppe       |
| Hordeivirus-Gruppe   | Tymovirus-Gruppe         |

**2.2. Bakterien**

Betreuer: Rabenstein, F.; Zielke, R.

*Clavibacter michiganensis* subsp.  
*michiganensis*  
*Clavibacter michiganensis* subsp.  
*sepedonicus*  
*Erwinia amylovora*  
*Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*  
*Erwinia chrysanthemi*  
*Erwinia herbicola*

*Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*  
*Pseudomonas solanacearum*  
*Xanthomonas campestris* pv. *begoniae*  
*Xanthomonas campestris* pv. *campestris*  
*Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*  
*Xanthomonas campestris* pv. *translucens*  
*Xanthomonas campestris* pv. *undulosa*

**2.3. Pilze**

Betreuer: Rabenstein, F.; Gabler, J.

*Drechslera teres*  
*Fusarium oxysporum* f. sp. *pisi*  
*Mastigosporium muticum*  
*Phoma lingam*

*Plasmodiophora brassicae*  
*Phytophthora nicotianae*  
*Rhynchosporium secalis*  
*Verticillium dahliae*

## XI. Sondenbank Probe Bank

In der BAZ wird im Institut für Resistenzgenetik am Standort Grünbach eine Sondenbank geführt. Die Sonden (eigene und fremde) wurden aus verschiedenen Gramineenarten entwickelt und stehen anderen Forschungseinrichtungen kostenlos, Privatunternehmen gegen eine Lizenzgebühr zur Verfügung.

The BAZ Institute for Resistance Genetics, Grünbach, maintains a probe bank. The probes (BAZ-owned or from other institutions) are developed from different *Gramineae* species. They are made available to other research institutions free of charge, private enterprises have to pay a licence fee.

### 1. RFLP-Sonden

Betreuer: Graner, A.

| Art    | Sondentyp | eigene Sonden | fremde Sonden |
|--------|-----------|---------------|---------------|
| Gerste | genomisch | ca. 700       | ca. 150       |
|        | cDNA      | 145           | ca. 150       |
| Weizen | genomisch |               | 50            |
| Hafer  | cDNA      |               | 80            |
| Reis   | genomisch |               | 30            |
|        | cDNA      |               | 80            |

Davon zugeordnet:

| Gen         | Spezifität                    | Chromosom | Marker   | Abstand in cM |
|-------------|-------------------------------|-----------|----------|---------------|
| <i>ym4</i>  | BaMMV                         | 3L        | MWG010   | 0,9           |
| <i>ym5</i>  | BaMMV BaYMV-I<br>BaYMV-II     | 3L        | MWG010   | 1,1           |
| <i>ym5'</i> | BaMMV                         | 3L        | MWG085   | 0,6           |
| <i>ym7</i>  | BaMMV                         | 5S        | RWTHAT13 | 0,0           |
| <i>ym8</i>  | BaMMV                         | 4L        | MWG2307  | 2,2           |
| <i>ym9</i>  | BaMMV                         | 4L        | MWG517   | 0,4           |
| <i>ym10</i> | BaYMV-I BaYMV-II              | 3L        | MWG010   | 7,5           |
| <i>ym11</i> | BaMMV                         | 4L        | MWG2159  | 0,0           |
| <i>Rh</i>   | <i>Rhynchosporium secalis</i> | 3L        | cMWG680  | 0,0           |
| <i>Pt</i>   | <i>Pyrenophora teres</i>      | 3L        | MWG2138  | 0,4           |
| <i>Ti</i>   | <i>Typhula infestans</i>      | 5S        | MWG2148  | 2,1           |
| <i>Mlhb</i> | <i>Erysiphe graminis</i>      | 2S        | cMWG682  | 6,8           |

## 2. Mikrosatelliten

Betreuer: Graner, A.

| Art    |  | eigene Sonden | fremde Sonden |
|--------|--|---------------|---------------|
| Gerste |  | 4             | 6             |

Davon zugeordnet:

| Gen         | Spezifität | Chromosom | Marker | Abstand in cM |
|-------------|------------|-----------|--------|---------------|
| <i>ym11</i> | BaMMV      | 4L        | HVM3   | 5,2           |

## 3. STS-Marker

Betreuer: Graner, A.

| Art    |  | eigene Primer | fremde Primer |
|--------|--|---------------|---------------|
| Gerste |  | 5             | 10            |

Davon zugeordnet:

| Gen        | Spezifität                    | Chromosom | Marker      | Abstand in cM |
|------------|-------------------------------|-----------|-------------|---------------|
| <i>ym4</i> | BaMMV                         | 3L        | STS-MWG838  | 3,3           |
| <i>Rh</i>  | <i>Rhynchosporium secalis</i> | 3L        | STS-cMWG680 | 0,0           |
| <i>Pt</i>  | <i>Pyrenophora teres</i>      | 3L        | STS-cMWG680 | 0,8           |



## XII. Sachwortverzeichnis

### Index

#### —A—

Abscisinsäure 16; 126  
 Acyrtosiphon sp. 71; 232  
 Agrobacterium 212  
 Agrobacterium sp. 17; 34; 51; 52; 53; 54; 78; 131; 132; 186; 212; 231  
 Alfalfa mosaic virus 230  
 Allium sp. 14; 16; 17; 74; 75; 151; 152; 171; 172; 211; 214; 221  
 Alternaria sp. 12; 69; 137; 148; 150; 154; 155; 156; 170; 173; 174; 175; 221; 231  
 Alyogyne sp. 35  
 Amylase 129; 176; 219  
 Amylopektin 18; 129; 130; 131  
 Amylose 18; 129; 130; 131  
 Anethum sp. 5; 19; 130; 163; 164; 221  
 Aneuploidie 115  
 Antherenkultur 99; 124; 143; 190  
 Anthurium sp. 29  
 Antikörper 42; 49; 55; 61; 62; 132; 177; 184; 206; 207; 208; 210; 224; 233  
 Antiseren 42; 45; 55; 56; 59; 61; 62; 64; 68; 71; 215; 233  
 Apfelsäure 102; 106  
 Aphide 31; 60; 66; 71; 72; 73; 74; 75; 107; 153; 173; 174; 210; 230  
 Aphis sp. 71; 75; 76; 77; 232  
 Aroma 166; 185; 194; 197; 222; 223  
 Arthrobacter sp. 231  
 Artkreuzung 23; 91; 108; 171; 172  
 Ascochyta sp. 63; 231  
 Aspartataminotransferase 173  
 Aulacorthum sp. 71; 232  
 Ausbreitung 44; 53; 57; 79; 80  
 Avena sp. 43; 110; 209  
 Azotobacter sp. 231

#### —B—

Bacillus sp. 45; 46; 231  
 Barley mild mosaic virus 41; 144; 215; 220  
 Barley yellow dwarf virus 60; 61; 66; 67; 68; 69; 73; 74; 81; 82; 110; 119; 209; 212; 216; 217  
 Barley yellow mosaic virus 13; 134; 139; 144; 147; 220  
 Basismaterial 1; 14; 21; 35; 37; 43; 56; 66; 81; 82; 83; 89; 90; 107; 108; 109; 110; 111; 112; 113; 114; 115; 122; 129; 130; 133; 148; 153; 154; 155; 157; 161; 165; 167; 209  
 Bastarde 75; 153; 160; 167; 171; 172; 174; 175; 182; 222  
 Beerenreife 192  
 Beet mild yellowing virus 60; 71; 207  
 Beet necrotic yellow vein virus 13; 45; 46; 233  
 Beet western yellow virus 60; 61; 69; 70; 71  
 Beet yellows virus 233  
 Begonie sp. 30; 61  
 Beta sp. 41; 45; 71; 129  
 Bildanalyse 17; 182; 191; 192  
 Bildverarbeitung 173; 175; 180  
 Biocarbonat 36

Bioreaktor 29; 30  
 Biotechnologie 13; 49; 95; 113; 148; 218; 225  
 Blattmerkmale 32  
 Blennocampa sp. 31  
 Bodenmüdigkeit 31  
 Botrytis sp. 13; 37; 89; 185; 189; 198; 231  
 Brachycorynella sp. 71; 232  
 Brassica sp. 12; 14; 16; 17; 18; 56; 57; 69; 70; 114; 148; 149; 150; 152; 153; 154; 155; 156; 160; 161; 167; 169; 170; 173; 174; 175; 180; 181; 211; 221; 222  
 Brevibacterium sp. 231  
 Brevicoryne sp. 71; 173; 174; 232  
 Bromovirus-Gruppe 230  
 Bymovirus-Gruppe 230

#### —C—

Cacoecia sp. 31  
 Carlavirus-Gruppe 230  
 Carmovirus-Gruppe 230  
 Carotin 175  
 Carum sp. 16; 19; 157; 158; 159; 162; 163  
 Carvon 157; 158; 162  
 Caulimovirus-Gruppe 230  
 Cavariella sp. 71; 232  
 Cellulomonas sp. 231  
 Chalara sp. 231  
 Chlorose 26; 214  
 Chromosom 17; 46; 47; 70; 102; 103; 115; 119; 140; 141; 144; 145; 146; 147; 170; 172; 173; 178; 179; 180; 181; 182; 191; 192; 235; 236  
 Chrysanthemum sp. 58; 59  
 Cladosporium sp. 231  
 Clavibacter sp. 79; 212; 215; 231; 233; 234  
 Clematis sp. 16  
 Clerodendrum sp. 35  
 Closterovirus-Gruppe 60; 230  
 Colletotrichum sp. 231  
 Comovirus-Gruppe 230  
 Coriandrum sp. 19; 163; 164  
 Corynebacterium sp. 231  
 Cucumber mosaic virus 233  
 Cucumovirus-Gruppe 230  
 Curtobacterium sp. 231  
 Cybride 169  
 Cyclamen sp. 27  
 Cylindrocladium sp. 34; 37; 38  
 Cytogenetik 102; 203  
 Cytoplasma 12; 132; 140; 141; 142; 169; 170; 171  
 cytoplasmatische männliche Sterilität 151; 169; 170; 171  
 Cytospora sp. 93; 94; 231

#### —D—

Dactylis sp. 214  
 Datenbank 134; 146; 199; 200; 201  
 Daucus sp. 16; 17; 18; 74; 75; 159; 160; 171; 175; 176; 180; 181; 222

Diagnose 2; 12; 13; 14; 15; 17; 19; 24; 32; 39; 41; 42; 46; 47; 48; 49; 50; 53; 55; 56; 57; 58; 59; 60; 61; 62; 63; 64; 65; 68; 71; 81; 85; 86; 88; 94; 99; 104; 114; 115; 118; 119; 120; 125; 126; 136; 142; 145; 147; 149; 161; 164; 170; 173; 176; 180; 182; 183; 186; 187; 188; 190; 193; 206; 207; 208; 209; 210; 211; 215; 223

Dianthovirus-Gruppe 230

Diaphorase 98; 173

Diplocarpon sp. 31

DNA 16; 17; 22; 23; 24; 25; 26; 41; 47; 48; 49; 50; 51; 61; 86; 101; 102; 103; 104; 115; 116; 117; 121; 131; 134; 141; 144; 145; 146; 149; 169; 172; 176; 178; 179; 182; 186; 187; 189; 191; 192; 215; 216; 220; 222; 235

Dokumentation 24; 201

Drechslera sp. 41; 42; 43; 62; 67; 68; 69; 81; 82; 215; 216; 217; 231; 234

## —E—

Einzelpestellinien 13; 82; 83; 84; 120

ELISA 13; 42; 44; 45; 50; 51; 52; 53; 55; 56; 57; 58; 59; 60; 61; 62; 63; 64; 65; 67; 69; 71; 73; 136; 137; 138; 139; 144; 153; 154; 178; 179; 215; 233

Embryogenese 16; 28; 29; 33; 34; 114; 190; 191; 210

Embryokultur 100; 171

Enkianthus sp. 36; 37

Enzym 19; 51; 60; 86; 122; 127; 129; 130; 131; 132; 177; 193

Epidemiologie 0; 1; 5; 9; 11; 43; 61; 62; 63; 66; 71; 81; 82; 91; 93; 111; 119; 147; 154; 155; 158; 174; 216; 217; 230

Erdbeerton 194

Erica sp. 34; 37; 38

Ertrag 13; 66; 91; 92; 93; 110; 111; 113; 122; 135; 140; 142; 156; 157; 158

Erwinia amylovora 13; 77; 78; 90; 91; 207; 213; 217; 234

Erwinia carotovora subsp. atroseptica 57; 58; 112; 132; 234

Erwinia sp. 12; 18; 57; 58; 59; 77; 78; 90; 112; 131; 132; 133; 176; 177; 207; 212; 217; 219; 231; 234

Erysiphe sp. 13; 24; 25; 32; 33; 35; 37; 41; 47; 63; 87; 88; 90; 91; 98; 105; 110; 117; 119; 129; 139; 156; 182; 212; 219; 235

Escherichia sp. 18; 231

Esterase 98; 173

Euphorbia sp. 28; 29; 214

Evaluierung 56; 60; 68; 71; 75; 87; 90; 111; 117; 125; 133; 157; 185; 200; 208; 221

Explantate 29; 30; 53; 97; 98

## —F—

Farbe 32; 91; 160; 162; 196

Fenchon 157; 163

Festuca sp. 50; 51

Foeniculum sp. 19; 157; 159; 163

Fragaria sp. 18; 47; 89; 159; 165; 166; 214

Frankliniella sp. 31; 32

Frost 209

Frucht 24; 38; 78; 80; 91; 93; 97; 99; 100; 106; 157; 162; 163; 226

Fumarsäure 165

Furaneol 19; 166; 194; 195; 223

Furovirus-Gruppe 230

Fusarium sp. 12; 58; 59; 62; 134; 135; 136; 138; 156; 231; 234

## —G—

Gaswechsel 188; 226

Gattungsbastarde 161

Genanalyse 190

Genbank 23; 25; 66; 67; 69; 71; 73; 74; 75; 82; 83; 84; 88; 90; 92; 94; 95; 101; 104; 105; 108; 109; 112; 118; 119; 123; 129; 131; 144; 154; 155; 156; 164; 166; 203; 221

Genetik 10; 70; 96; 118; 121; 140; 164; 177; 178; 202; 203; 204; 205; 208; 210; 211; 220

Genomanalyse 24; 142; 145; 209; 211

Gentechnik 12; 13; 23; 25; 26; 33; 49; 51; 53; 131; 132; 176; 177; 190; 203; 212; 214; 220; 224

Geschmack 175

Glucosinolat 174; 222

Glycoproteide 28; 29

## —H—

Haploidie 190

Helianthus sp. 17; 182

Heritabilität 128

Heterosis 16

Homozygotie 30; 39; 99; 100; 101; 117

Hordeivirus-Gruppe 230

Hordeum sp. 13; 16; 17; 18; 33; 41; 42; 43; 62; 66; 72; 73; 74; 81; 82; 83; 84; 85; 86; 87; 88; 119; 124; 127; 129; 133; 134; 144; 145; 146; 147; 176; 209; 210; 211; 213; 215; 216; 217; 218; 219; 220; 235; 236

Hüllprotein 17; 50

Hybride 12; 56; 96; 111; 113; 114; 115; 138; 140; 141; 142; 149; 150; 155; 169; 170; 173; 211

Hybridisierung 13; 17; 26; 45; 46; 48; 49; 96; 101; 111; 114; 143; 148; 149; 150; 151; 154; 169; 170; 172; 182; 192; 209

Hydroxyprolin 123

## —I—

Identifizierung 211

Ilarvirus-Gruppe 230

Immunfluoreszenztest 61

In-vitro-Kultur 33; 36; 214

Infektion 12; 22; 35; 41; 44; 46; 47; 52; 62; 67; 68; 70; 74; 79; 83; 84; 85; 86; 87; 88; 94; 136; 138; 144; 151; 178; 186; 200

Inhaltsstoff 1; 18; 19; 22; 126; 131; 159; 160; 162; 165; 166; 167; 168; 174; 185; 221

Introgression 119; 154; 172

Isatis sp. 154; 155; 156

Isoenzym 17; 99; 115; 117; 118; 120; 125; 132; 145; 173; 179; 209

## —K—

Kallus 15; 27; 29; 33; 114; 123; 124; 143; 147; 149; 151; 152; 190

Kartierung 12; 24; 26; 102; 118; 144; 145; 146; 147; 179

Karyotypanalyse 17; 173; 181

Klon 13; 26; 31; 34; 35; 36; 38; 47; 49; 53; 54; 76; 89; 92; 94; 98; 100; 104; 107; 108; 109; 140; 144; 146; 199

Kopplungsanalyse 47; 118; 173; 179

Kreuzungsbarriere 14; 171

## —L—

Lagerung 45; 57; 106; 112; 115; 132; 218  
 Leek yellow stripe virus 214  
 Lepidium sp. 156  
 Leucinaminopeptidase 99; 173  
 Linum sp. 161  
 Lolium sp. 13; 16; 41; 52; 55; 56; 118; 119; 120; 208  
 Luteovirus-Gruppe 60; 61; 71; 207; 230  
 Lycopersicon sp. 59; 79; 206  
 Lysozym 176; 177

## —M—

Macrosiphoniella sp. 71  
 Macrosiphum sp. 71; 232  
 Malus sp. 14; 16; 17; 18; 23; 24; 35; 38; 41; 47; 48; 75; 76;  
 77; 78; 89; 95; 96; 97; 98; 99; 100; 101; 102; 103; 104;  
 105; 106; 206; 207; 208; 210; 211; 214; 217; 218  
 Malvin 196  
 Marker 17; 22; 23; 24; 25; 26; 34; 35; 37; 38; 39; 46; 47;  
 49; 51; 86; 94; 102; 103; 115; 118; 119; 120; 121; 124;  
 126; 127; 140; 142; 144; 145; 146; 147; 169; 173; 176;  
 178; 179; 181; 187; 189; 211; 220; 235; 236  
 Marssonina sp. 21; 33; 34  
 Mastigosporium sp. 214; 234  
 Megoura sp. 71; 232  
 Meiose 182  
 Mentha sp. 19; 163  
 Metopolophium sp. 71; 72; 73; 232  
 Microbacterium sp. 231  
 Micrococcus sp. 231  
 Mikroskopie 47; 48; 131; 171; 180  
 Mikrosorenkultur 114; 190  
 Morphin 164; 183  
 Morphologie 79; 172; 175; 182; 221  
 Most 104; 155; 187; 192  
 Mycosphaerella sp. 231  
 Myzus sp. 71; 173; 232

## —N—

Nährstoffeffizienz 107; 122  
 Necrovirus-Gruppe 230  
 Nectria sp. 13  
 Nematode 74; 111; 112  
 Nepovirus-Gruppe 230  
 Nichtstärkepolysaccharid 129; 133  
 Nicotiana sp. 52; 53; 59; 63; 215  
 NIR 130; 131; 159  
 NTT 130; 131  
 Nocardia sp. 231

## —O—

Oidium sp. 189; 198; 200; 215  
 Oxalsäure 175

## —Ö—

Ölgehalt 157; 162

## —P—

Panonychus sp. 75; 76; 77; 90

Papaver sp. 164; 183  
 Parthenogenese 99; 100  
 Pathogenbank 55; 87; 88  
 PCR 13; 17; 25; 26; 46; 50; 51; 53; 56; 57; 61; 62; 102;  
 103; 104; 105; 115; 116; 119; 120; 121; 145; 146; 147;  
 149; 150; 179; 186; 187; 189  
 Pea enation mosaic virus 230; 233  
 Pea seed borne mosaic virus 41; 46; 47; 179  
 Peanut stunt virus 233  
 Pelargonie sp. 61  
 Pentatrachopus sp. 71; 232  
 Peroxidase 41; 98  
 Pflanzenschutz, Integrierter 203  
 Pflanzentest 82; 87; 88  
 Phenol 196; 197; 198  
 Phoma sp. 12; 62; 148; 150; 154; 155; 156; 170; 173; 174;  
 175; 214; 221; 231; 234  
 Phomopsis sp. 231  
 Phytohormon 28; 126  
 Phytophthora sp. 59; 62; 63; 89; 90; 108; 109; 111; 112;  
 140; 143; 212; 215; 218; 231; 234  
 Pisum sp. 18; 41; 46; 47; 59; 144; 173; 178; 179; 232  
 Plasmodiophora sp. 62; 154; 155; 173; 174; 221; 234  
 Plasmopara sp. 44; 139; 182; 189; 198; 200  
 Podosphaera sp. 13; 24; 25; 32; 33; 35; 37; 41; 47; 48; 63;  
 90; 91; 97; 98; 105; 110; 117; 119; 129; 139; 182; 212;  
 218; 219  
 Pollen 114  
 Polyamin 105; 106; 197  
 Polymyxa sp. 41; 45; 46; 68; 215  
 Populationsdynamik 80  
 Potato leafroll virus 60; 61; 233  
 Potato virus A 207; 215; 233  
 Potato virus M 52; 107; 108; 233  
 Potato virus S 52; 107; 108  
 Potato virus X 52; 107; 108; 140; 233  
 Potato virus Y 17; 41; 48; 49; 50; 52; 53; 54; 61; 64; 65;  
 107; 108; 140; 143; 233  
 Potexvirus-Gruppe 230  
 Potyviren 49; 50; 51; 56; 64; 65  
 Potyvirus-Gruppe 49; 50; 51; 56; 64; 65; 230  
 Prämunisierung 79; 80  
 Protein 18; 33; 42; 49; 124; 125; 127; 144; 173; 211; 215  
 Proteus sp. 231  
 Protoplasten 96; 115; 141; 143; 148; 149; 153; 191; 207;  
 211  
 Protoplastenfusion 211  
 Protoplastenkultur 207; 211  
 Prunus sp. 14; 16; 18; 89; 92; 94; 95; 100; 104; 168  
 Pseudocercospora sp. 134; 136; 137; 144; 207; 220; 231  
 Pseudomonas sp. 45; 79; 80; 90; 94; 151; 152; 210; 212;  
 216; 231; 234  
 Puccinia sp. 68; 69; 82; 83; 84; 85; 86; 87; 88; 118; 119;  
 120; 210; 213; 217; 219; 231  
 Pythium sp. 231

## —Q—

Qualität 1; 13; 17; 29; 59; 89; 90; 92; 93; 94; 96; 102; 106;  
 112; 115; 128; 129; 133; 149; 156; 159; 162; 165; 167;  
 171; 197; 198; 218

## —R—

Raphanus sp. 14; 150; 153; 160; 169; 173; 174; 175

Rassen 81; 84; 88; 155; 230; 231  
 Rebsorten 206  
 Regeneration 27; 28; 30; 33; 34; 53; 96; 97; 99; 100; 113;  
 114; 124; 142; 143; 147; 151; 158; 190; 191; 223  
 Reife 162; 163; 192  
 Resistenz 0; 1; 2; 5; 6; 9; 11; 12; 13; 14; 22; 24; 25; 31; 32;  
 33; 34; 35; 41; 42; 43; 45; 46; 47; 48; 50; 51; 52; 53; 56;  
 60; 61; 62; 63; 66; 67; 68; 69; 70; 71; 72; 73; 75; 76; 77;  
 82; 83; 84; 85; 86; 87; 88; 89; 90; 91; 92; 93; 94; 97; 98;  
 100; 101; 102; 103; 104; 105; 107; 108; 109; 110; 111;  
 112; 113; 114; 117; 118; 119; 120; 122; 134; 135; 136;  
 137; 138; 139; 140; 143; 145; 146; 147; 148; 150; 152;  
 153; 154; 155; 156; 158; 161; 170; 171; 172; 174; 176;  
 177; 179; 185; 186; 189; 198; 200; 207; 208; 209; 210;  
 211; 212; 216; 217; 219; 220; 225; 228; 230; 235  
 Ressourcen, pflanzengeneticische 2; 89; 90; 117; 131; 133;  
 185; 199; 200; 208; 211  
 RFLP 22; 24; 25; 26; 46; 47; 86; 102; 118; 119; 120; 121;  
 141; 142; 144; 145; 146; 147; 178; 179; 189; 219; 220;  
 235  
 Rhizoctonia sp. 59; 231  
 Rhodococcus sp. 231  
 Rhododendron sp. 25; 26; 36; 37; 214  
 Rhopalosiphum sp. 67; 71; 72; 73; 74; 232  
 Rhynchosporium sp. 13; 62; 63; 134; 137; 138; 146; 147;  
 220; 234; 235; 236  
 RNA 17; 121; 144  
 Rosa sp. 14; 22; 23; 26; 27; 31; 32; 33  
 Rotweinfarbstoff 196  
 Rubus sp. 89; 90  
 Ryegrass mosaic virus 41; 55; 56; 207; 233  
 Rymovirus-Gruppe 230

### —S—

Saintpaulia sp. 58; 63; 64; 214; 215  
 Samen 27; 74; 98; 100; 101; 119; 127; 150; 151; 158; 174;  
 175; 180; 183; 187; 198; 200  
 Sammlung 0; 55; 83; 185; 200; 217; 230  
 Säureabbau 192  
 Schaderreger 1; 12; 31; 32; 75; 89; 122; 147; 156; 161; 185  
 Schwachwuchs 93  
 Sclerotinia sp. 37; 182; 185; 198  
 Secale sp. 12; 16; 18; 110; 117; 118; 120; 121; 126; 127;  
 128; 129; 133; 211  
 Sekretion 176; 177  
 Selbstfertilität 92; 94; 100; 110  
 Selbstinkompatibilität 16; 104; 119  
 Selektion 2; 12; 13; 14; 15; 16; 17; 24; 26; 27; 36; 43; 44;  
 46; 47; 56; 66; 67; 70; 72; 75; 77; 81; 82; 83; 85; 89; 90;  
 92; 93; 94; 99; 102; 106; 108; 115; 118; 119; 123; 124;  
 126; 127; 128; 134; 135; 136; 138; 139; 142; 145; 146;  
 149; 153; 158; 159; 160; 161; 162; 164; 169; 173; 174;  
 175; 176; 178; 181; 183; 185; 188; 189; 193; 194; 196;  
 197; 198; 218  
 Semiaphis sp. 71; 232  
 Sensorik 2; 13; 91; 94; 161; 167; 175; 193  
 Septoria sp. 12; 85; 110; 134; 135; 136; 156  
 Sequenzierung 49; 50; 189  
 Serologie 63  
 Serratia sp. 231  
 Serum 0; 62; 233  
 Serumbank 0; 233  
 Signalpeptid 176  
 Sinapis sp. 150; 154; 155; 160; 170; 173; 174; 175; 180;  
 181; 221

Sitobion sp. 67; 71; 72; 73; 74; 232  
 Sobemovirus-Gruppe 230  
 Solanum sp. 12; 14; 15; 16; 17; 18; 20; 41; 48; 49; 52; 57;  
 58; 59; 64; 107; 108; 109; 112; 113; 114; 115; 122; 123;  
 124; 126; 131; 132; 133; 134; 140; 141; 142; 143; 168;  
 176; 177; 178; 183; 208; 209; 211; 218  
 Sondenbank 0; 134; 145; 146; 235  
 Sorte 1; 13; 15; 16; 17; 19; 23; 24; 26; 27; 30; 32; 38; 39;  
 42; 43; 44; 46; 47; 48; 53; 54; 55; 58; 62; 63; 64; 67; 70;  
 73; 74; 75; 76; 77; 78; 80; 82; 83; 84; 85; 86; 87; 89; 90;  
 91; 92; 93; 94; 95; 96; 99; 101; 102; 103; 104; 105; 106;  
 108; 109; 111; 113; 118; 121; 122; 123; 125; 127; 129;  
 130; 132; 134; 135; 136; 137; 138; 140; 151; 152; 153;  
 154; 155; 159; 160; 164; 165; 166; 168; 176; 181; 183;  
 185; 186; 187; 188; 190; 191; 192; 193; 194; 195; 196;  
 197; 198; 199; 200; 206; 207; 208; 210; 211; 213; 214;  
 217; 223  
 Spektroskopie 223  
 Sphaerotheca sp. 31; 32; 33  
 Standfestigkeit 111; 129  
 Staphylococcus sp. 231  
 Stärke 61; 81; 122; 128; 129; 130  
 Sterilität 14; 110; 151; 169; 170; 171; 172  
 Stoffwechsel 187  
 Streßfaktor 14; 105; 122; 125; 185  
 Streßphysiologie 0; 5; 9; 116; 122; 187; 188; 219; 228

### —T—

Taxonomie 88  
 Temperatur 14; 34; 59; 73; 75; 99; 119; 151; 169; 188  
 Thrips sp. 32  
 Tibouchina sp. 35; 36  
 Tobamovirus-Gruppe 230  
 Tobravirus-Gruppe 230  
 Toleranz 1; 13; 14; 15; 25; 26; 36; 37; 58; 66; 67; 75; 82;  
 89; 93; 94; 105; 109; 110; 122; 124; 125; 126; 127; 153;  
 185; 187; 188; 200; 206; 209  
 Tomato spotted wilt virus 230  
 Tombusvirus-Gruppe 230  
 Toxin 185  
 Transformation 26; 28; 33; 34; 53; 96; 147; 176  
 Trisomie 117; 181  
 Triticale 18; 84; 85; 111; 129; 130; 133  
 Triticum sp. 12; 18; 41; 43; 71; 72; 73; 82; 84; 127; 128;  
 134; 136; 137; 144; 208; 209; 215; 221; 235  
 Trockenresistenz 206  
 Turnip mosaic virus 56; 143; 152; 153  
 Turnip yellows luteovirus 69; 70; 71  
 Tymovirus-Gruppe 230  
 Typhula sp. 57; 235

### —U—

Unterlage 27; 31; 78; 93; 94; 95

### —V—

Variabilität 2; 14; 16; 19; 26; 37; 82; 98; 99; 102; 111; 112;  
 118; 120; 126; 135; 136; 140; 141; 142; 154; 155; 158;  
 162; 165; 167; 173; 175; 183; 226  
 Vektor 13; 46; 52; 68; 71; 132  
 Venturia sp. 24; 25; 35; 78; 90; 91; 98; 105  
 Verarbeitung 128; 168  
 Verticillium sp. 58; 62; 89

## XIII. Namensverzeichnis

### List of names

#### —A—

Abad 177; 207  
 Afanosenko 211  
 Ahne, R. 6; 102; 173; 175; 180; 181  
 Aldwinkle 92  
 Alleweldt, G. 4; 6; 191; 222; 223  
 Amadei, E. 223  
 Ananiew 211  
 Andersen 39; 94; 95  
 Andrée, S. 5; 130  
 Andrejeva, J. 215  
 Anger 202  
 Appel, J. 217  
 Assani, A. 6; 143; 219

#### —B—

Bachmann, O. 6; 185  
 Backes, G. 219  
 Bader 202  
 Balko, C. 5; 122; 123; 124; 125; 126; 188; 219  
 Barchend, G. 4; 52; 53  
 Bartels, C. 22; 23; 85; 202  
 Bartling, S. 131; 219  
 Bartos 212  
 Bauer, E. 6; 144; 219; 220  
 Becker 204  
 Beer, E. 217  
 Benaouf, G. 35; 39; 226  
 Benvenuto 177; 208  
 Berardi 209  
 Bercetche 207  
 Berg 205  
 Berkelmann 203  
 Berner 205  
 Bertschinger 209  
 Blaich 186; 189; 205  
 Blüthner, W. A. 218  
 Boer de 209  
 Bohling 204  
 Böhlje 37  
 Böhm, A. 189  
 Bömer, T. 10; 202; 222  
 Bos 210  
 Bouman 210  
 Bräcker, G. 23; 35  
 Brandau, K. 28  
 Braun, U. 215  
 Brennicke, A. 222  
 Broer 176; 177; 202  
 Brown 92; 213  
 Brüning, H. 6; 144  
 Bryngelsson 42; 211  
 Buck, S. 189  
 Budahn, H. 6; 47; 169; 170; 171; 178; 222  
 Budin 211  
 Bülow, L. 6; 177  
 Bürgermeister, W. 46; 202; 215  
 Burt 213

Büscher, N. 222  
 Buser 212  
 Büttner 25; 90; 91; 104; 203

#### —C—

Callebaut 206  
 Camara Machado da 210  
 Carsten 131; 202  
 Casper 202  
 Cavelier, N. 137; 207; 220  
 Cerff, R. 178; 203; 223  
 Chaanin, A. 25; 36; 214  
 Chao, J.-M. 175; 204; 222; 227  
 Cherreau 207  
 Chrestensen, N. L. 10  
 Clauß, E. 6; 154; 155; 161; 162; 167; 173; 174; 221; 222  
 Comeau 209  
 Conner 209  
 Conrad 184; 203; 204

#### —D—

Dalla Serra, A. 223  
 Darsow, U. 5; 65; 107; 108; 218  
 Dathe, B. 5; 89; 90; 102; 106; 166  
 Debener, T. 4; 21; 22; 214; 224  
 Debergh 143  
 Dehmer, K. J. 220  
 Depicker 177; 206  
 Derkx, P. M. F. 219  
 Dettweiler-Münch, E. 6; 187; 199; 200; 222  
 Diekmann, M. 95  
 Dietzmann, E. 7  
 Dill, P. 5; 19; 130; 163; 164; 219; 221  
 Dohm, A. 31; 33  
 Dongowski 202  
 Dörffling 28; 124; 126; 204  
 Dorokhov, D. B. 150; 211; 221; 227  
 Drescher, A. 5  
 Dry, P. R. 188; 206; 222  
 Dubuc 209  
 Dunemann, F. 4; 23; 24; 25; 35; 38; 214  
 Düring, H. 6; 187; 188; 192; 225  
 Düring, K. 6; 9; 176; 177; 183; 222; 223; 225  
 Duveiller 209

#### —E—

Ebbinghaus, R. 34; 35; 37  
 Ecke, W. 70; 71  
 Edossa, A. 218  
 Effmert, B. 5  
 Ehemann, A. 6; 186  
 Ehrig, F. 4; 47; 48; 177; 214  
 Eibach, R. 6; 198; 199; 200  
 Eichenlaub 202  
 Eisbein, K. 5; 79; 216  
 Ellis 209  
 Elsner, R. 10

Emons 210  
 Enderlein 174  
 Endo, T. R. 220  
 Engel, L. 223  
 Eppler, A. 217  
 Erokhina 211

## —F—

Faby 90  
 Fahl, E. 4  
 Fang 206  
 Feldheim 204  
 Felsenstein 84; 205  
 Feuerstein 205  
 Find 207  
 Fisahn 202  
 Fischbeck, G. 86; 205; 219  
 Fischer, C. 5; 77; 90; 97; 101; 102; 217  
 Fischer, M. 217; 91; 95; 101; 104; 105; 217  
 Flamme, W. 5; 9; 128; 129; 130; 219  
 Flath 202  
 Foltys de Garcia, E. 218  
 Fomicheva, V. 226  
 Foroughi-Wehr, B. 6; 62; 137; 138; 146; 147; 219; 220; 225  
 Franck, P. 10  
 Frei, U. 118; 140; 147; 220  
 Friedt, W. 10; 182; 183; 203; 220  
 Fuchs, E. 102; 181; 183; 203; 204; 215  
 Fuchs, J. 102; 181; 183

## —G—

Gabler, J. 4; 62; 63; 215; 233  
 Garve, A. 8  
 Gasché, B. 32; 34  
 Gavrilenko, T. 112; 114; 116; 211; 227  
 Gebauer 203  
 Gebhard 23  
 Gebhart, C. 90; 92; 203; 217  
 Geiger, H. 10; 118  
 Geißler, K. 5; 71; 74; 158; 216  
 Gerdemann 202  
 Gerlach 64; 202; 206  
 Gertner, D. 226  
 Gill, B.S. 220  
 Gippert, R. 214  
 Goddrie 210  
 Graf, M. 8  
 Grafe, C. 5; 218  
 Graichen, K. 5; 61; 69; 71; 216  
 Graner, A. 6; 69; 144; 145; 146; 219; 220; 224; 234; 235  
 Griesbach, E. 5; 62; 79; 80; 158; 215; 216  
 Grieß, H. 218  
 Großmann, M. 222  
 Grotkauß, C. 214  
 Grüneberg 202  
 Grunewaldt, J. 4; 9; 27; 59; 224  
 Guseva 211  
 Gutmann 205  
 Gysi 212

## —H—

Haas, H. U. 180; 191

Habekuß, A. 5; 66; 73; 74; 75; 82; 91; 111; 119; 216; 217; 218; 229  
 Häberli 90  
 Hackauf, B. 5; 121  
 Haicour 143  
 Halušková, J. 227  
 Hammer, K. 69; 71; 73; 75; 82; 83; 84; 88; 154; 155; 156; 164; 166; 203; 221  
 Handschack 94  
 Hanke, V. 5; 95; 97; 101; 217; 218  
 Hanrieder 202  
 Hänsch 203  
 Harst, M. 6; 190; 191; 199; 223  
 Hartleb, H. 205  
 Hartmann 205  
 Heeger 211  
 Hehl, R. 178; 203; 223  
 Heinz 204  
 Hemleben 140; 206  
 Henning, J. 28  
 Herold 205  
 Herrbach, E. 207; 216  
 Herrmann, M. 5; 43; 110; 111  
 Herrmann, R. G. 220  
 Hespeler, O. 10  
 Heßberg, W. v. 7  
 Hill, A. M. 219  
 Hiller 202  
 Hoberg, E. 6; 165; 167; 175; 221; 225  
 Hofemeister 203  
 Höfer, M. 5; 99; 100; 218  
 Höfer, R. 6; 8; 160  
 Hofferbert, R. 220  
 Hofmann, K. 26  
 Hofmann, R. 8  
 Hohmann, U. 220  
 Holme 207  
 Horstmann 42; 203  
 Houben 183  
 Hunter 208  
 Huth 56; 202

## —I—

Iezzoni 93  
 Illg, R. 227

## —J—

Jacob 203  
 Jacobi 131; 202  
 Jahnke, A. 6; 176  
 Jahoor, A. 86; 205; 219; 220  
 Jakob, L. 223  
 Jakubeit 202  
 Jansen, G. 5; 129; 131; 219  
 Järvekülg, L. 207; 215; 216  
 Jeger 183  
 Johnston 213  
 Jong de 209  
 Jung 23  
 Junge, H. 4; 28  
 Junghanns, W. 221  
 Jürgens, H.-U. 5; 122; 125; 126; 129; 133; 219

## —K—

Kahnau, R. 25  
 Kandawa, M. A. 74; 119  
 Karl, E. 216  
 Karnatz 38; 39  
 Kasha, K. J. 209; 220  
 Kastirr, U. 4; 45; 214; 215  
 Kaufmann, H. 22  
 Kecke, S. 7; 163; 165; 187  
 Kegler, H. 215  
 Keller 203  
 Kellerhals 92; 212  
 Kellermann, A. 146; 220  
 Kemp 210  
 Kerns 60  
 Keulemans 99; 100; 206  
 Kibe, K. 215  
 Kicherer, S. 5; 86  
 Kiewnick, L. 217  
 King 24; 208  
 Kittlitz, E. v. 127; 205; 219  
 Kleemann, M. 7  
 Kleinhanns, C. 215  
 Kleinhofs, A. 220  
 Klenert, M. 6; 201  
 Klingauf, F. 10  
 Klocke, E. 6; 148; 153; 221  
 Köhler, U. 223  
 Kokošková 212  
 Kontzog, G. 203  
 Kopahnke, D. 5; 43; 63; 81; 158; 215; 230  
 Kovács 212  
 Krämer, I. 4; 61; 215  
 Krämer, R. 6; 57; 148; 152; 153; 161; 174; 216; 221  
 Kratka 212  
 Kratzsch 202  
 Kremen 210  
 Kretschmann, M. 216  
 Kreuzaler 177; 202  
 Kriehoff, O. 5; 47; 97; 218  
 Krüger, H. 6; 157; 158; 163; 221; 222  
 Krüger, J. 4; 9; 32; 34; 214  
 Krumbein 204  
 Kudela 212  
 Kühne, T. 4; 9; 46; 178; 179; 215  
 Kvaalen 210

## —L—

Lang 209  
 Langerfeld, E. 218  
 Larher, F. 219  
 Lautenbach, G. 7  
 Lay, H. 223  
 Le Rheu 137; 207  
 Le, T. T. 226  
 Lebe 204  
 Lehmann, S. 228  
 Leistner, H.-U. 4; 8; 56  
 Lellbach, H. 5; 9; 118; 119  
 Lemaire, O. 207; 216  
 Lenz, F. 10  
 Lesemann, D.-E. 56; 202; 215  
 Lespinasse 92; 99; 100; 207  
 Li Chaoluan 206

Lieberer, R. 29; 204; 214  
 Lietz, C. 30  
 Lin 206  
 Lind, V. 6; 136; 144; 220  
 Link 203  
 Linke, B. 222  
 Linsenmayer, A. 222  
 Linz, A. 5; 120; 218; 219  
 Lohse, B. 214  
 Löptien 150; 156  
 Lörz 204  
 Lösing 31  
 Lössl, A. 140; 220  
 Loveys 188; 206  
 Ltifi, A. 143  
 Lübbe 205  
 Luthard 203  
 Luttmann 28

## —M—

Mahn, A. 6; 176  
 Majunke 203  
 Mäkinen, K. 216  
 Malepszy 210  
 Maliepaard 24  
 Manganaris 208  
 Marais 212  
 Markowetz, A. 223  
 Markussen, T. 4; 24; 214  
 Marschke, J. 35  
 Marschner 205  
 Marthe, F. 6; 156  
 Martini 204  
 Matelis 209  
 Mather 146  
 Mattiesch, L. 22  
 Mattusch 202  
 Maxim, P. 227  
 Mayer 205  
 McGill 146  
 Mechelke 203  
 Meier, K. 29  
 Meister 203  
 Mendgen, K. 10; 204  
 Menzinger 90  
 Merits, A. 50; 207; 215  
 Merkt, B. 25  
 Meyer 202  
 Michel, M. 74; 217; 219  
 Mielke 202  
 Mihatsch, G. 218  
 Mishra, Y. 226  
 Mittelstädt 94; 205  
 Möller 203  
 Möllers, C. 220  
 Morris 208  
 Müller 80; 81; 202; 204  
 Müller, D. 5; 867  
 Müller, P. 216  
 Muno, H. 222  
 Muzichenko 211

## —N—

Nachtigall, M. 4; 43; 215; 217  
 Naumann, K. 4; 57; 58; 61; 81; 216  
 Nehring, K. 33  
 Neumann, M. 6; 9; 148; 153; 157; 221  
 Nicolini, G. 223  
 Niebergall, H. 204; 223  
 Niepold 113; 202  
 Nijs den 210  
 Niks 210  
 Ninnemann 140; 206  
 Norelli 213  
 Norgaard 207  
 Nothnagel, T. 6; 75; 150; 155; 160; 165; 169; 170; 171;  
 173; 175; 181; 183; 222  
 Nüske 204

## —O—

Obermeier, C. 46; 202; 215  
 Obst, A. 217  
 Ochatt 207  
 Odenbach 202  
 Oertel, C. 218  
 Oertel, U. 226  
 Olsen, O. 219  
 Ordon, F. 145; 147; 203; 220  
 Owolabi, A. T. 216; 226

## —P—

Pais 211  
 Pank, F. 6; 157; 158; 160; 162; 163; 164; 221  
 Parisi 39; 207  
 Parlevliet 210  
 Paulin 207  
 Pechan, P. 227  
 Pellny, T. 38  
 Perez de la Vega 212  
 Peter, K. 4; 9  
 Peterka, H. 6; 47; 71; 152; 171; 173; 178; 216  
 Pfeilstetter, E. 202; 215  
 Pickering, R. A. 82; 119; 209; 219  
 Polak 212  
 Porsch, P. 6; 176; 222  
 Poschenrieder 203  
 Posselt 52; 205  
 Poupard, P. 220  
 Preil, W. 4; 28; 29; 34; 35; 36; 37; 214; 224  
 Prochnow, J. 5; 87; 217  
 Proeseler, G. 4; 5; 9; 10; 20; 55; 66; 75; 93; 119; 147; 154;  
 174; 217  
 Pröll, E. 4; 55; 56; 61; 63; 64; 80; 112; 153; 215; 216  
 Pryanto 143  
 Puurand, Ü. 215

## —Q—

Quilitzsch, R. 6; 159; 162; 163

## —R—

Rabenstein, F. 4; 42; 49; 50; 55; 60; 61; 62; 64; 71; 80; 81;  
 138; 153; 215; 216; 232; 233

Radies, M. 35  
 Radosta 130; 206  
 Rakah 208  
 Ramm 80; 204  
 Rapp, A. 6; 9; 91; 166; 168; 193; 194; 196; 197; 225  
 Raudsepp, R. 215  
 Refatti 209  
 Reiss, E. 4; 41; 42; 63; 215  
 Resistenz 224  
 Reustle, G. 189; 205; 223  
 Richter, J. 216  
 Richter, K. 5; 77; 91; 216; 217; 230  
 Röbbelen 203  
 Rockstroh, K. 21; 33  
 Römheld 205  
 Rothacker 131  
 Rothe 205  
 Roux, S. 5; 110  
 Rudloff, E. 5; 8; 71  
 Rudolph 176; 177; 203  
 Ruffoni 208  
 Ruge, B. 5; 118; 119  
 Rühl 203  
 Ryschka, U. 6; 148; 151; 172; 221

## —S—

Saarma, M. 207; 215; 216  
 Sachs, E. 202; 204; 217  
 Sacristan 202  
 Sadiki 209  
 Sandke, G. 5; 89; 106; 197  
 Sangwan 207  
 Sanikidse 208  
 Sansavini 208  
 Sauer, A. 4; 31  
 Saur 137  
 Schaefer, H. J. 166; 205  
 Schaller, K. 10  
 Scheewe, P. 214  
 Scheike, R. 222  
 Schellenberg 202  
 Schickedanz 204  
 Schieberle 205  
 Schieder 96; 202  
 Schiemann 71; 202  
 Schilde-Rentschler 109; 112; 114; 206  
 Schlenker 203  
 Schliephake, E. 5; 60; 71; 73; 74; 158; 216; 217; 231  
 Schmidt, B. 223  
 Schmidt, D. 220  
 Schmidt, H. 4; 23; 24; 35; 38; 39; 214; 224  
 Schmidt, H. B. 216  
 Schmidt, K. 177  
 Schmidt, S. 5; 9; 105  
 Schneider, S. 189  
 Schneiderei, M. 28  
 Schnüber 202  
 Scholz, M. 5; 117; 218; 219  
 Scholze, P. 6; 148; 154; 155; 156; 170; 174; 221  
 Schönberger 203  
 Schots 177; 210  
 Schrader, O. 6; 170; 173; 180; 181; 182  
 Schreiber, H. 5; 25; 94; 101; 102; 104; 218  
 Schreyer 205  
 Schröder, H. 10; 167

Schubert, J. 4; 48; 49; 50; 51; 52; 53; 56; 203; 214; 215  
 Schubert, V. 218  
 Schüler 108; 109; 112; 123; 131; 133; 203  
 Schulz, B. 222  
 Schulz, H. 6; 9  
 Schulze, J. 221  
 Schulze, M. 39; 214  
 Schum, A. 4; 9; 26; 30; 214  
 Schumann, E. 218  
 Schumann, G. 6; 148; 151; 153; 172  
 Schuster, M. 5; 97; 101; 218  
 Schütze, U. 214  
 Schütze, W. 6; 8; 160; 164; 167; 175; 183; 204; 214; 222  
 Schwarz, S. 7  
 Schwenkel, H. G. 27  
 Schwenkel, H.G. 27  
 Seddig, S. 5; 116; 122; 124; 126; 127  
 Seehaus, H. 8; 35  
 Senula, A. 4; 59  
 Siebecke, E. 215  
 Siemens 202  
 Smalla 202  
 Sommer, C. 10  
 Sonntag, K. 5; 113; 114; 218; 224  
 Sorvari 207  
 Spanakakis, A. 220  
 Sperling 118  
 Spethmann 204  
 Spicher, J. 214  
 Spiegler 90  
 Stachewicz 109; 112; 113  
 Stamova 206  
 Stange, I. 25  
 Stattmann, M. 142  
 Steffan, H. 6; 196  
 Stein, M. 222  
 Steinberger 204  
 Steinbiss 204  
 Steinborn, R. 222  
 Steinrücken 206  
 Stelling, D. 127; 203; 219  
 Stiekema 177; 210  
 Stielau, E. 32; 34  
 Stöldt, A. 214  
 Straka, P. 6; 9; 165; 171; 173; 178; 181; 183  
 Stritzinger, P. 8  
 Strube, H. 10  
 Sukhacheva 211

—T—

Tambov 211  
 Tantau, H. 5; 124  
 Tartarini 208  
 Täufel, A. 130; 202; 219  
 Tekauz 147; 209  
 Tenzer, I. 35; 39; 226  
 Thiele, A. 220  
 Thieme, R. 5; 114; 115; 218  
 Thieme, T. 218  
 Thomann 130; 202  
 Thompson 226  
 Tiemann, H. 5; 52; 53; 54; 58; 59; 65; 111; 112; 113; 123;  
 131; 133; 168; 224  
 Tillmann 71  
 Timmann, E.-M. 35; 39

Timpe, U. 215  
 Titova, I. 227  
 Tjallingii 210  
 Tjuterev 211  
 Töpfer, R. 5; 6; 9  
 Trench 158; 202  
 Treutter 205  
 Troshin 212

—U—

Ubach 210  
 Uhrig 204  
 Ulrich, D. 6; 161; 165; 167; 168; 175; 221; 222; 226  
 Urban, M. 215  
 Urbitsch, F. 7

—V—

Vacke 212  
 Valkonen, J. 207; 216  
 Valkov, V. 146; 227  
 Vanek 212  
 Veldtmann 203  
 Versini 208  
 Versini, G. 223  
 Vetten, H.-J. 56; 61; 202; 216  
 Vogt, H. 4; 9  
 Völksch 80; 204

—W—

Wackernagel 176; 177; 205  
 Wackwitz 92; 203  
 Wagner, S. 223  
 Walther, H. 6; 134; 138  
 Walther, U. 5; 9; 82; 83; 84; 86; 87; 217; 230  
 Wang 52; 205  
 Weber, J. 219  
 Webers 202  
 Wedler, G. 7  
 Wegener, C. 5; 109; 131; 132; 219  
 Wehling, P. 5; 9; 117; 119; 120; 121; 218  
 Weidner, A. 218  
 Weihl, T. 6; 187  
 Wenzel, G. 6; 9; 114; 140; 142; 143; 205; 220; 224  
 Werres 202  
 Wettstein, v. 132  
 Wiedemann 92; 93; 94; 203  
 Wienand 204  
 Wilcke 92; 203  
 Wildenhain 90; 204  
 Wilkins 120; 208  
 Wilner, P. 119  
 Wilkova 211  
 Willmitzer, L. 10; 132; 202  
 Winkelmann, T. 28; 203; 214  
 Winkler, T. 6; 177  
 Wirth, H. 214  
 Wobus, U. 10  
 Wolf 62; 87; 203  
 Wolfram, B. 5; 40; 78; 92; 93; 94; 97; 101; 104; 218  
 Wonneberger 164  
 Wortmann 129; 204  
 Woylokow 118; 121; 211

Wricke, G. 10; 118; 121; 204; 222  
Wyk van 212

—Z—

Zeiger, B. 222  
Zeller 92; 202; 205  
Zielke, R. 4; 57; 58; 61; 218; 233

Zimmer, K. 10  
Züchner, S. 6; 220  
Zunft 202  
Zurek, M. 6  
Zutra 208  
Zwet van der 213  
Zyprian, E. 6; 186; 187; 189; 225