



Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen



Ahrensburg • Aschersleben • Dresden-Pillnitz

Groß Lüsewitz • Grünbach • Quedlinburg • Siebeldingen

Jahresbericht 1994

Quedlinburg, März 1995

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, 1995

Druck: Halberstädter Druckhaus GmbH

Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen

Ahrensburg • Aschersleben • Dresden-Pillnitz

Groß Lüsewitz • Grünbach • Quedlinburg • Siebeldingen

Jahresbericht 1994

Quedlinburg, März 1995

Inhalt

	<u>Seite</u>
I. Aufgaben der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen	1
II. Organisation und Personal	2
III. Bericht des Anstaltsleiters	9
IV. Forschung	14
Institut für Zierpflanzenzüchtung, Ahrensburg	14
Institut für Resistenzforschung, Aschersleben	31
Institut für Pathogendiagnostik, Aschersleben	42
Institut für Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben	50
Institut für Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz	66
Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz	77
Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz	83
Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität, Groß Lüsewitz	86
Institut für Resistenzgenetik, Grünbach	91
Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg	101
Institut für Qualitätsanalytik, Quedlinburg	108
Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg	115
Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen	124
V. Wissenschaftliche Zusammenarbeit	134
VI. Veröffentlichungen	144
Publikationen	144
Vorträge / Poster	158
VII. Lehrtätigkeit	176
VIII. Gastwissenschaftler	178
IX. Sammlungen von Schaderregern	181
X. Serumbank	183
XI. Sachwortverzeichnis	184
XII. Namensverzeichnis	188

I. Aufgaben der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen

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 raschen Züchtung von Kulturpflanzensorten mit erwünschter Resistenz gegen Schaderreger und hoher Produktqualität und stellt ihr zudem Basismaterial für die Entwicklung von Sorten zur Verfügung.

Die Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen wurde mit dem 01. Januar 1993, entsprechend den Empfehlungen des Wissenschaftsrates, um drei weitere Forschungsinstitute erweitert. Es sind dies das Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof in Siebeldingen, das Institut für Zierpflanzenzüchtung in Ahrensburg und das Institut für Resistenzgenetik in Grünbach.

Damit bearbeitet die BAZ seit 1993 produktspezifisch die wichtigsten Kulturpflanzen in den Bereichen Landwirtschaft, Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzen, Obst, Rebe und Zierpflanzen.

Die Forschungsschwerpunkte sind:

1. Züchtungsforschung zur Erstellung von dauerhaft gesundem Basismaterial:

- Analyse der genetischen und molekulargenetischen Ursachen der Resistenz und Toleranz gegen biotische und abiotische Schäden
- 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
- Analyse der kulturartspezifischen 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
- Erarbeitung von morphologischen, biochemischen und molekulargenetischen Merkmalen zur Entwicklung von 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

Die Bundesanstalt umfaßt an 7 Standorten (Ahrensburg, Aschersleben, Dresden-Pillnitz, Groß Lüsewitz, Grünbach, Quedlinburg und Siebeldingen) insgesamt 13 Institute; der Hauptsitz ist Quedlinburg. Von den rund 540 planmäßig Beschäftigten sind 110 Wissenschaftler, dazu kommen in allen personellen Bereichen Mitarbeiter mit zeitlich befristeten Aufgaben.

II. Organisation und Personal

Anstaltsleitung

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-201
 06484 Quedlinburg Fax: (03946) 47-202
 Leiter (komm.): Prof. Dr. Dr. h. c. Gerhardt Alleweldt
 Wiss. Mitarbeiter: Wiss. Rat z. A. 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: Katja Brandau, Dr. Thomas Debener, Dr. Frank Dunemann,
 Wiss. Oberrat Dr. Hinrik Junge, Dr. Jutta Krüger, Torsten Markussen,
 Wiss. Oberrat Dr. Walter Preil, Etta Riemer, Dr. Annemarie Sauer,
 Wiss. Dir. in Prof. Dr. Hanna Schmidt, Dr. Annegret Schum, Jan Weber,
 Traud Winkelmann

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: Wiss. Rätin z. A. Dr. Gudrun Barchend, Wiss. Rat z. A. Dr. Fred Ehrig,
 Wiss. Rätin z. A. Dr. Ute Kastirr, Wiss. Rätin z. A. Dr. Marion Nachtigall,
 Dr. Ernst Reiss, Wiss. Rat z. A. Dr. Jörg Schubert, Dr. Ulrich Timpe

Institut für Pathodiagnostik

Anschrift: Theodor-Roemer-Weg 4 Tel.: (03473) 879-168
 06449 Aschersleben Fax: (03473) 27 09
 Leiter: Prof. Dr. Klaus Naumann
 Wiss. Mitarbeiter: Dr. Jutta Gabler, Wiss. Rätin z. A. Dr. Ilona Krämer,
 Wiss. Rat z. A. 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: Anke Drescher, Dr. Klaus Eisbein, Dr. Klaus Geißler, Dr. Klaus Graichen,
 Dr. Erika Griesbach, Wiss. Rätin z. A. Dr. Antje Habekuß, Dr. Sonja Kicherer,
 Wiss. Rätin z. A. Dr. Doris Kopahnke, Dr. Dietrich Müller,
 Wiss. Rat z. A. 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: Dr. Barbara Dathe, Prof. Dr. Christa Fischer, Christine Grafe,
 Wiss. Rätin z. A. Dr. Viola Hanke, Wiss. Rätin z. A. 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) 8 05 32
 18190 Groß Lüsewitz Fax: (038209) 8 05 38

Leiter (komm.): Dr. Horst Tiemann

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

Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

Anschrift: Institutsplatz 1 Tel.: (038209) 8 05 34
 18190 Groß Lüsewitz Fax: (038209) 8 05 38

Leiter (komm.): Dr. Bertin Effmert

Wiss. Mitarbeiter: Dr. Horst Gerath, Dr. Hans Lellbach, Anke Linz, Maja Michel, Dr. Margret Scholz, Dr.
 Hanni Tantau

Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität

Anschrift: Institutsplatz 1 Tel.: (038209) 8 05 36
 18190 Groß Lüsewitz Fax: (038209) 8 05 38

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

Wiss. Mitarbeiter: Dr. Sabine Andreeé, Wiss. Rätin z. A. Dr. Christiane Balko, Dr. Susanne Bielka,
 Gisela Jansen, Dr. Hans-Ulrich Jürgens, Wiss. Rätin z. A. Dr. Sylvia Seddig,
 Wiss. Rätin z. A. 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: Akym Assani, Eva Bauer, Wiss. Rat Dr. Heinrich Brüning,
 Dir. u. Prof'in Dr. Bärbel Foroughi-Wehr, Dr. Andreas Graner, Ali Ltifi,
 Wiss. Oberrat Dr. Volker Lind, Andreas Lössl, Marietta Stattmann,
 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: (08122) 97 57 97

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

Wiss. Mitarbeiter: Wiss. Rätin z. A. Dr. Evelyn Klocke, Wiss. Rat z. A. Dr. Reiner Krämer,
 Dr. Ulrich Ryschka, Dr. Paul Scholze, Wiss. Rat z. A. 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

Wiss. Mitarbeiter: Wiss. Rätin z. A. Dr. Edelgard Hoberg, Roselinde Höfer,
 Wiss. Rat z. A. Dr. Hans Krüger, Dr. Rolf Quilitzsch, Dr. Wolfgang Schütze,
 Wiss. Rat z. A. 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: Dr. Richard Ahne, Wiss. Rat z. A. Dr. Holger Budahn, Prof. Dr. Eberhard Clauß,
 Hans-Ulrich Haas, Wiss. Rat z. A. Dr. Thomas Nothnagel,
 Wiss. Rat z. A. Dr. Herbert Peterka, Petra Porsch, Wiss. Rat z. A. Dr. Otto Schrader,
 Wiss. Rätin z. A. Dr. Petra Straka, Thomas Winkler

Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof

Anschrift: **76833 Siebeldingen** Tel.: (06345) 4 11 14
 Fax: (06345) 4 11 77

Leiter: Prof. Dr. Dr. h. c. Gerhardt Alleweldt

Wiss. Mitarbeiter: Dr. Otto Bachmann, Dir. u. Prof. Prof. Dr. Rolf Blaich, Nicole Büscher,
Wiss. Rätin z. A. Dr. Erika Dettweiler-Münch, Wiss. Oberrat Dr. Helmut Düring,
Andreas Ehemann, Wiss. Dir. Dr. Rudolf Eibach,
Wiss. Rätin z. A. Dr. Margit Harst, Dr. Renate Kaiser-Alexnat,
Wiss. Oberrat Dr. Martin Klenert, Dir. u. Prof. Prof. Dr. Dr. Adolf Rapp,
Wiss. Oberrat Dr. Heinrich Steffan, Dr. Eva Zyprian

Gemeinschaftliche Einrichtungen

Hauptbibliothek

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

Leiterin: Grit Lautenbach

Arbeitsgruppe Elektronische Datenverarbeitung

Anschrift: Neuer Weg 22/23 Tel.: (03946) 47-261
06484 Quedlinburg 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: Karl-Friedrich Schnell

Grünbach

Anschrift: Graf-Seinsheim-Str. 23
85461 Grünbach
Tel.: (08122) 97 57 28
Fax: (08122) 97 57 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) 4 11 72
Fax: (06345) 4 11 77

Leiter: Wilfried v. Heßberg

Groß Lüsewitz

Anschrift: Institutsplatz 1
18190 Groß Lüsewitz
Tel.: (038209) 8 05 38
Fax: (038209) 8 05 38

Leiter: Günter Wedler

Personalvertretungen der BAZ

Hauptpersonalrat beim BML

Mitglied:

Rosalinde Höfer Tel.: 03946/47-239
Quedlinburg

Gesamtpersonalrat der BAZ

Vorsitzender:

Dr. Wolfgang Schütze Tel.: 03946/47-281
Quedlinburg

Örtliche Personalräte der BAZ

Ahrensburg

Vorsitzender:
Helmut Seehaus Tel.: 04102/802-77

Grünbach

Vorsitzender:
Dr. Heinrich Brüning Tel.: 08122/97 57 19

Aschersleben

Vorsitzender:
Dr. Hans-Ulrich Leistner Tel.: 03473/879-160

Quedlinburg

Vorsitzende:
Almut Garve Tel.: 03946/47-246

Dresden-Pillnitz

Vorsitzende:
Reinhild Hofmann Tel.: 0351/26162-221

Sieboldingen

Vorsitzende:
Petra Stritzinger Tel.: 06345/410-151

Groß Lüsewitz

Vorsitzender:
Eicke Rudloff Tel.: 038209/8 05 33

Mitglieder des Anstaltskollegiums der BAZ

Mitglieder ex officio:

Prof. Dr. Dr. h. c. G. Alleweldt	Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof
Dr. K. Düring	Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse
Dr. B. Effmert	Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen
Prof. Dr. W. Flamme	Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität
Prof. Dr. Grunewaldt	Institut für Zierpflanzenzüchtung
Dr. Th. Kühne	Institut für Resistenzforschung
Prof. Dr. K. Naumann	Institut für Pathogendiagnostik
Dr. M. Neumann	Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung
Dr. F. Pank	Institut für Qualitätsanalytik
Prof. Dr. G. Proeseler	Institut für Epidemiologie und Resistenz
Prof. Dr. S. Schmidt	Institut für Obstzüchtung
Dr. H. Tiemann	Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen
Prof. Dr. Wenzel	Institut für Resistenzgenetik

Zugewählte Mitglieder:

Dr. H. Gerath	Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen
Frau Dr. J. Krüger	Institut für Zierpflanzenzüchtung
Prof. Dr. A. Rapp	Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof
Frau Dr. A. Straka	Institut für Zierpflanzenzüchtung
Frau Dr. P. Straka	Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse
Frau Dr. U. Walther	Institut für Epidemiologie und Resistenz

Personalübersicht 1994

Stand : 31. Dez. 1994

Institut/Org. Einheit	Wissenschaftler			sonst. Angest.	Arbeiter	Verwalt. Schreib- kräfte	Gesamt
	a)	b)	c)				
ZENTRALE QUEDLINBURG							
Anstaltsleitung u. Verwaltung	2				6	23,5	31,5
Gemeinschaftliche Einrichtungen	1			6,5	10	1	18,5
STANDORT AHRENSBURG							
I.f. Zierpflanzenzüchtung	9			16,5	15	4	41,5
STANDORT ASCHERSLEBEN							
I.f. Resistenzforschung	7		1	9	16	2	21
I.f. Pathogendiagnostik	7	0,5		9	1	1	17
I.f. Epidemiologie u. Resistenz	7,5		3,5	10	1	1	18
STANDORT DRESDEN							
I.f. Obstzüchtung	10			5	15	2	22
STANDORT GROß LÜSEWITZ							
I.f. Züchtung landw. Kulturpflanzen	8			6	13	2	21
I.f. Züchtungsmeth. landw. Kulturpflanzen	6,5		1,5	9	3	1	21
I.f. Streßphysiologie u. Rohstoffqualität	6	0,5		8	1	1	16,5
STANDORT GRÜNBACH							
I.f. Resistenzgenetik	6	1		2	1	1	4
STANDORT QUEDLINBURG							
I.f. Gemüse-, Heil- u. Gewürzpflanzen	6			4,5	7,5		18
I.f. Qualitätsanalytik	7			14	1	1	22
I.f. Züchtungsmethodik bei Gemüse	8,5	1,5		10		1	18
STANDORT SIEBELDINGEN							
I.f. Rebenzüchtung Geilweilerhof	11			1	5,5	5	11,5
GESAMT	102,5	3,5	6	180,5	138	52,5	483,0

- a) aus Haushaltsmitteln
b) aus Zuwendungen Dritter
c) aus DFG-Mitteln

III. Bericht des Anstaltsleiters

Der vorliegende Jahresbericht der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen, der dritte seit ihrer Gründung, vermittelt einen umfassenden Einblick in die vielfältigen Forschungsaktivitäten der Institute.

Dieser Überblick ist zweifelsohne notwendig. Er läßt aber nur punktuell und andeutungsweise die Zuordnung der Einzelprojekte zu den Forschungszielen erkennen und noch weniger deutlich die institutsübergreifenden Zusammenhänge. Doch genau auf diese Zusammenarbeit zwischen den produktbezogenen Instituten und jenen, die eine horizontale, querschnitts-bezogene Aufgabenstellung erhalten haben, ist die BAZ ausgerichtet. Bei einer unvermeidbaren "Aufflistung" der Forschungsergebnisse der Institute treten zwangsläufig übergeordnete Gesichtspunkte, die zur Projektformulierung geführt haben, zurück.

In diesem Vorspann zum Jahresbericht wird erstmals der Versuch unternommen, den Zusammenhang von Forschungsprojekt und Forschungsziel aufzuzeigen.

1. Die Verbesserung der Resistenz der Kulturpflanzen gegen Schaderreger

Die Bemühungen zur Entwicklung der "Gesunden Pflanze" genießen in der Anstalt einen sehr hohen Stellenwert. Das Ziel dabei ist, Basismaterial für die Sortenzüchtung zu entwickeln, das eine hohe Resistenz oder Toleranz gegen biotische Schaderreger besitzt. Hierbei muß zwangsläufig auf das Potential der genetischen Ressourcen der Genbanken in Gatersleben und in Völkendorf zurückgegriffen werden, das auf das Vorhandensein der erwünschten Resistenz- oder Toleranzgene zu evaluieren ist. Diese Ergebnisse sind den Forschungsprojekten Nr.¹ 058, 059, 061, 063, 066, 067, 070, 071, 072, 073, 102, 116, 155, 156, 157, 206, 207 zu entnehmen.

Der sich anschließende Schritt der Einkreuzung von Resistenzgenen in für die Züchtung nutzbare Ausgangspopulationen (sog. "Basismaterial") erfolgte im Berichtsjahr bei:

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Spinat	020
Zierpflanzen	024, 025
Apfel	026, 027, 076
Süßkirsche	028, 089
Spargel	029
Erdbeere	075
Sauerkirsche	077
Kirschunterlagen	078
Kartoffel	094, 095, 105
Roggen	098
Hafer	099
Triticale	100
Weizen	130, 131, 132
Gerste	133, 135
Pfefferminze	166
Mohn	175
Porree	178
Sonnenblumen	182
Rebe	204, 205

¹ Die hier aufgeführten Forschungsprojekt-Nummern entsprechen den am Ende eines jeden Berichtes angefügten laufenden Nummern.

Eine wichtige Möglichkeit zur Entwicklung der "Gesunden Pflanze" ist die unmittelbare Übertragung von Genen, welche die Widerstandsfähigkeit gegen Schaderreger bestimmen oder erhöhen können. Dieser Weg über den Gentransfer ist dann sehr bedeutsam, wenn entsprechende Resistenzgene innerhalb einer Art nicht vorhanden sind und somit auf konventionellem Wege die Erstellung von geeignetem Basismaterial nicht möglich ist oder einen sehr hohen zeitlichen Aufwand über Artkreuzungen erfordert. Zu diesen Bemühungen zählen die vorgelegten Berichte der Forschungsprojekt-Nr. 041, 042, 045, 128, 144, 145. Am weitesten fortgeschritten sind Gentransfervorhaben bei der Kartoffel, Forschungsprojekt-Nr. 183, 184. Mit Hilfe von *Agrobacterium tumefaciens* wurde das Hüllproteing des Kartoffel Y Virus übertragen, in genomischer DNA nachgewiesen und die Verteilung von mRNA im Pflanzengewebe durch RT-PCR in situ sichtbar gemacht. Die Resistenzprüfung der transgenen Pflanzen findet z.Z. statt. Eine signifikante Resistenzreaktion zeigen transgene Kartoffelpflanzen der Sorte 'Desirée' nach Integration eines T4 Lysozymgenes. Das für eine Freisetzung benötigte Pflanzenmaterial wird derzeit hergestellt.

Die Schaffung von Basismaterial mit biotischer Resistenz wird wesentlich erleichtert, wenn die Resistenzmechanismen bekannt sind. Daher ist die Erforschung unabweisbar. Zu diesen Bemühungen gehören z.B. die Forschungsprojekte Nr. 039, 091, 186.

2. Die Erhöhung der Toleranz von Kulturpflanzen gegen Stressfaktoren

Trockenheit, Kälte und andere ungünstige Klimafaktoren führen mitunter zu erheblichen Ertrags- und Qualitätsdepressionen. Klimatolerante Kulturpflanzen können diese Einbußen minimieren. Dazu ist es aber notwendig, die für die Toleranz verantwortlichen Eigenschaften einer Pflanze zu erkennen, Methoden zum Auffinden von Genotypen mit hoher Toleranz zu entwickeln und schließlich die stress-toleranten Pflanzen in nutzbare Basispopulationen einzubringen. Zu diesem Aufgabenbereich gehören die Forschungsprojekte Nr. 091, 118, 119, 120, 121, 122, 123, 189, 190, 191.

Ein erklärtes Ziel zur Realisierung einer umweltgerechten Landnutzung sind sog. "low-input"-Kulturpflanzenarten, die eine hohe Nährstoffaneignung und -effizienz besitzen. Sie sind geeignet, selbst bei sinkender Nährstoffzufuhr (Düngung) ihre Ertrags- und Qualitätsleistung aufrecht zu halten. Das Auffinden von "low-input"-Sorten ist jedoch noch recht umständlich, siehe dazu z.B. Forschungsprojekt Nr. 111.

3. Züchtungsmethodische Forschungsarbeiten

Die Biotechnologie mit dem Teilgebiet Gentechnologie bestimmt zunehmend den Prozeß der Entwicklung neuer, leistungsfähiger Kulturpflanzenarten. Sie ist bereits jetzt mit den etablierten In-vitro-Kulturtechniken ein unverzichtbarer Bestandteil der Sortenzüchtung.

Daher nehmen die Arbeiten zur Verbesserung der Zell- und Gewebekultur und zur Regeneration von Einzelzellen

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Saintpaulie	006
Rose	008
Euphorbie	009, 011
Anthurie	010
Clematis	012
Kirsche	079
Apfel	080, 085

Kartoffel	108
Raphanus, Brassica	147
Rebe	194,

die Schaffung von haploiden bzw. dihaploiden Pflanzen

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Porree	021
Apfel	084
Kirsche	086
Weizen	134
Brassica	148

und die Zellfusion

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Kartoffel	104, 107, 109, 137, 138
Raphanus, Brassica	146
Kümmel	151
Porree	149

einen breiten Raum ein.

Das Ziel dieser Forschungsarbeiten ist die Entwicklung von Regenerationssystemen zur Verbesserung der Genübertragung, zur Herstellung genetischer Variabilität, zur Nutzung der somaklonalen Variation oder zur Schaffung von pathogenfreiem Ausgangsmaterial, namentlich von vegetativ vermehrbaren Arten.

Sind durch die Kombination von Gameten keine Embryonen zu erzielen, so bietet sich die Fusion von vorübergehend zellwandlosen, somatischen Zellen, den Protoplasten, an. Eine Voraussetzung dafür ist die Regeneration intakter Pflanzen aus Protoplasten. Forschungsarbeiten zur Erstellung von Regenerationsprotokollen werden bei Apfel (080, 085) und Kirsche (079), Rebe (194), Rose (008) sowie bei Usambaraveilchen (006) und Porree (021) durchgeführt. Wesentliche Fortschritte bei der Erstellung der Regenerationsprotokolle werden dadurch erzielt, daß regenerative Kalluskulturen oder embryonale Gewebeverbände bis hin zu unreifen gametischen und somatischen Embryonen zur Gewinnung von Protoplasten eingesetzt werden.

Die Analyse der Erbsubstanz (Genom- und/oder Genanalysen) ist die Grundlage der "markergestützten Selektion". Die frühzeitige und zweifelsfreie Erkennung von gewünschten Eigenschaften einer Kultursorte ist häufig noch immer sehr schwierig, unsicher oder sehr zeitaufwendig.

Das Auffinden von Genen, die die Eigenschaft bedingen oder mit ihr sehr eng korreliert sind, erhöhen die Selektionseffizienz. Diese molekulargenetischen Untersuchungen, die zwangsläufig kulturartspezifisch durchzuführen sind, haben im Berichtszeitraum bei den nachstehenden Arten zu wichtigen Ergebnissen geführt:

1. Kartierung von Resistenzgenen

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Rosen	002
Apfel	003, 004
Gerste	068, 141, 142, 143
Roggen	110
Kartoffel	129
Raphanus, Brassica	171
Erbse	176
Rebe	192

2. Kartierung von Markern für abiotische Resistenz

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Rhododendron	005
Rose	013
Rebe	188

Die Pflanzenzüchtung ist bemüht, den sog. Heterosiseffekt zu nutzen, der in der 1. Kreuzungsgeneration auftreten kann und zu einer beachtenswerten Leistungssteigerung führt. Ein wesentliches Instrument zur Erzeugung von "Hybrid-Sorten" ist das Auffinden von Sterilitätsmechanismen, z.B. die "cytoplasmatisch männliche Sterilität" (cms), und ihre Einkreuzung in Basispopulationen. Hiermit beschäftigen sich die Forschungsprojekte:

Kulturart	Forschungsprojekt-Nr.
Porree	023
Raps	101, 103
Kartoffel	106
Möhre	153, 173
Brassica	169, 170, 172

4. Die Verbesserung der Produktqualität

Zur Verbesserung der Produktqualität von Kulturarten gehört nicht nur die Kenntnis von den qualitätsbestimmenden Inhaltsstoffen, sondern die Entwicklung von Methoden zur raschen Analyse dieser Parameter in Züchtungspopulationen. Besondere Fortschritte wurden in der Analyse des Morphingehaltes des Mohns (Forschungsprojekt-Nr. 164, 175), bei der Carotinbestimmung der Möhre (Forschungsprojekt-Nr. 159) und in der gaschromatischen Feststellung wichtiger Aromastoffe des Apfels (Forschungsprojekt-Nr. 092, 203) sowie der Erdbeere (Forschungsprojekt-Nr. 092, 162, 167) erzielt.

5. Die Verbesserung der Rohstoffqualität

Bei einer Reihe von Kulturarten wird ihre industrielle Nutzung seit vielen Jahren diskutiert. Der Züchtungsforschung fällt hierbei die Aufgabe zu, den Gehalt an industriell nutzbaren Inhaltsstoffen so zu erhöhen, daß der Anbau dieser Kulturarten auch wirtschaftlich konkurrenzfähig ist. Im Mittelpunkt der augenblicklichen Forschungsschwerpunkte steht der Gehalt an Amylase, Amylose, Amylopektin, dipiden Phosphaten und Protein bei den Arten Triticale (Forschungsprojekt-Nr. 096, 097), Gerste (Forschungsprojekt-Nr. 126), sowie Erbse (Forschungsprojekt-Nr. 124) an. Eine besondere Rolle für die Stärkeverarbeitung spielt die pflanzliche Zellwand und die Aktivierung zellwandlytischer Enzyme. Hierbei dürfte das Auffinden von Genen der Pektatlyase nicht nur die Selektion von Genotypen erleichtern, sondern auch zum Gentransfer eingesetzt werden (Forschungsprojekt-Nr. 128).

IV. Forschung

Institut für Zierpflanzenzüchtung Ahrensburg

Das Institut für Zierpflanzenzüchtung hat die Aufgabe, bei ein- und mehrjährigen krautigen und verholzenden Pflanzenarten Zuchtmethoden zu erarbeiten und genetisch definiertes Basismaterial zu erstellen. Dabei stehen die Aspekte der gesunden Pflanze und der Produktqualität im Vordergrund.

1. Gentechnologie

1.1. Molekulargenetische Charakterisierung der Wechselwirkung zwischen Rosen und Rosenpathogenen - Molecular genetic characterization of interactions between roses and rose pathogens Debener, Th.; Mattiesch, L.; Drewes-Alvarez, R.; Schult, P.

Für die Wechselwirkung zwischen Rosen und Sternrußtau sowie anderen Rosenpathogenen sollen Infektionsverläufe molekularbiologisch charakterisiert werden, um für Resistenzreaktionen relevante Gene analysieren und isolieren zu können. Die Ergebnisse sollen mit anderen, bereits gut untersuchten, Systemen kombiniert werden.

Erste Ergebnisse zum Versuch, Rosenblätter in Feuchtekammern zu infizieren, zeigen, daß die Infektionsverläufe denen in der Klimakammer an ganzen Pflanzen vergleichbar sind. Auch Abstufungen der Anfälligkeitsreaktion spiegeln sich im Feuchtekammertest wider. Es wurden bisher fünf Rosengenotypen mit drei Sternrußtauisolaten getestet.

Um die genetische Diversität des Sternrußtaus abzuschätzen, wurden bereits charakterisierte sowie neu isolierte Linien mit Hilfe von RAPD-Markern analysiert. Es zeigte sich, daß Isolate verschiedener Standorte sehr einfach differenzierbar sind, während zwischen verschiedenen Einzelsporlinien eines Standortes keine oder nur geringe Unterschiede festzustellen sind. (BAZ-6113)

001

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

Debener; Th.; Mattiesch, L.; Drewes-Alvarez, R.; Bartels, Ch.

Es sollen wirtschaftlich wichtige Gene unter besonderer Berücksichtigung von Resistenzgenen gegen den Sternrußtau genetisch charakterisiert, relativ zu molekularen Markern kartiert und isoliert werden, um den langwierigen Prozeß der Resistenzzüchtung zu verkürzen.

Vorbereitende Arbeiten zur Erstellung molekularer Markerarten und zur Kartierung von Resistenzgenen wurden weitergeführt.

Hierzu wurde eine genomische Plasmidbank mit rund 1200 Klonen hergestellt und Klone mit Sequenzähnlichkeiten zu Chloroplastenfrequenzen und genomischen repetitiven Sequenzen identifiziert. Außerdem wurde eine genomische Bank in EMBL 4 mit einer durchschnittlichen Insertgröße von 15 Kb hergestellt.

42 Kreuzungen und Selbstungen zwischen *R.osa multiflora*-Substitutionsbastarden, -Wildarten und -Sorten wurden im Gewächshaus und Freiland durchgeführt. Während Selbstungen aufgrund des bei Rosen verbreiteten Selbstinkompatibilitätssystems bis auf eine Ausnahme fehlschlagen, konnten für einige Kreuzungen genügend Samen für Nachkommenschaften mit mehr als 100 Pflanzen erhalten werden.

Weitere Versuche zu neuen Strategien für die RAPD-Analyse mit 15 bzw. 20 bp langen Primern ergaben eine höhere Kombinationseignung für die 15 und 20 mere im Vergleich zu den 10 meren (Tab. 1). Hierzu wurden mit acht Primern und zwei Rosengenotypen alle Primerkombinationen (28) auf die Anwesenheit neuer Banden im Vergleich mit den Einzelprimern getestet. Als Maß für die Kombinierbarkeit wurden der Anteil Primerkombinationen mit neuen Banden sowie die mittlere Zahl neuer Banden herangezogen.

Tab. 1: Anteil Primerkombinationen mit neuen Banden und mittlere Zahl neuer Banden je Kombination

Primertyp	Primerkombinationen mit neuen Banden in %	Mittlere Zahl neuer Banden je Kombination
20 mere	68 %	1,1
15 mere A	70 %	1,1
15 mere B	68 %	1,45
10 mere	51 %	0,8

Die Ergebnisse zeigen, daß die Zahl neuer Amplifizierungsprodukte bei 15 und 20 meren deutlich höher liegt als bei 10 meren und sich diese besser für RAPD-Analysen, welche auf Primerkombinationen beruhen, eignen. Überraschend war die Gesamtzahl der auftretenden Banden bei Reaktionen sowohl mit einzelnen als auch kombinierten 15 und 20 meren. Diese von theoretischen Berechnungen abweichenden Beobachtungen stimmen mit den Ergebnissen aus Arbeitsgruppen überein, die ähnliche Markerstrategien verwenden.

Die verschiedenen RAPD-Markertypen werden zur Zeit auf ihre Eignung zur Identifizierung von Eltern in Kreuzungsnachkommenschaften und zur Sortenidentifizierung untersucht. Erste Ergebnisse zeigen, daß einzelne Primer bzw. Primerkombinationen zehn verschiedene Rosensorten sowie Wildarten eindeutig voneinander unterscheiden können. (BAZ-6114)

002

1.3. Erstellung einer gesättigten Genkarte beim Apfel als Grundlage für die Entwicklung von effizienten Zuchtverfahren zur Schaffung von quantitativ hochwertigen, krankheitsresistenten Apfelsorten - Construction of a saturated linkage map in apple as a basis for the development of efficient breeding methods for qualitatively superior and resistant apple varieties.

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

Die Effizienz von Zuchtverfahren bei Malus könnte erheblich gesteigert werden, wenn RAPD- und RFLP-Techniken zur markergestützten Selektion angewandt würden. Da die Zahl der bekannten Gene, die als morphologische oder Protein-Marker einsetzbar sind, sehr

begrenzt ist, soll für eine genomumfassende Genkartierung eine sehr große Zahl von DNA-Markern entwickelt werden. Aufgefundene Kopplungen zwischen Markerloci und agronomisch wichtigen Genen sollen für Frühselektionen auf Resistenz, Frucht- und Baummerkmale genutzt werden. Die Erstellung "gesättigter" Genkarten soll zu einem besseren Verständnis der Genetik des Apfels führen und schließlich auch als Grundlage für neue züchterische Ansätze, wie z.B. den Gentransfer, dienen.

Die Erstellung und Identifikation von polymorphen RAPD- und RFLP-Markern erfolgt unter Einbeziehung 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 vorzunehmen.

Die am Institut für Zierpflanzenzüchtung begonnenen RAPD-Kartierungen auf der Grundlage der Population 'J', die auf eine Kreuzung der Sorten 'Fiesta' x 'Prima' zurückgeht, wurden fortgesetzt. Eine vorläufige Genkarte umfaßt 13 Kopplungsgruppen mit je zwei bis fünf RAPD-Markern. Auch ein erster RFLP-Marker konnte einer dieser Gruppen zugeordnet werden. Neben der schwerpunktmäßig durchgeführten RAPD-Kartierung (Abb. 1) wurde die Entwicklung von RFLP-Markern fortgesetzt. Ausgehend von einer genomischen PstI-

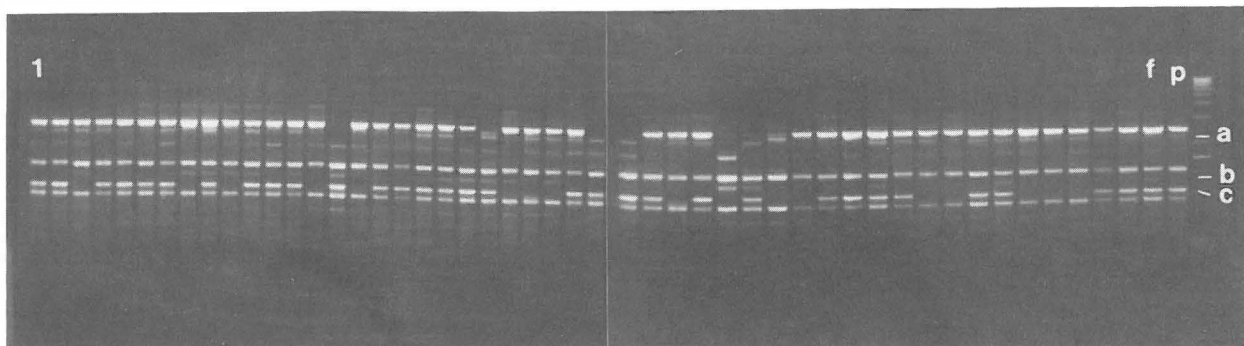


Abb. 1: RAPD-Analyse einer aus 47 Individuen bestehenden Teilpopulation der Nachkommenschaft 'J' (1-47) und der Kreuzungseltern 'Fiesta' (F) und 'Prima' (P) mit dem Decamer-Primer UBC 213. Zwei 1:1 spaltende (a, b) und ein 3:1 spaltender Marker (c) sind durch Pfeile markiert

Bibliothek des Apfels wurden unter Anwendung eines nichtradioaktiven DNA-Hybridisierungsverfahrens (Digoxigenin-Verfahren, Boehringer Mannheim) informative RFLP-Sonden selektiert und auf eine Teilpopulation der aus insgesamt 160 Individuen bestehenden Nachkommenschaft angewandt. (BAZ-6111)
003

1.4. Molekulargenetische Charakterisierung von Resistenzgenen beim Apfel - Molecular genetic characterization of resistance genes in apple Markussen, T.; Dunemann, F.

Die Entwicklung molekularer Marker für wirtschaftlich wichtige Resistenzgene, insbesondere gegen Pilzkrankungen wie Apfelschorf (*Venturia inaequalis*) und Apfelmehltau (*Podosphaera leucotricha*), könnte für den Züchter ein wichtiges diagnostisches Instrumentarium darstellen, mit dem er mit geringem Zeitaufwand Kreuzungsnachkommenschaften bereits in juveniler Phase auf erwünschte Genkombinationen selektieren könnte. Es sollen deshalb in parallelen Ansätzen molekulare Genmarker für Schorf- und Mehlttauresistenz identifiziert werden, die eine markergestützte Selektion von Genotypen mit multipler Resistenz erlauben. Damit sollen auch die Voraussetzungen für die Isolierung der entsprechenden Gene geschaffen werden.

Für die Selektion von RAPD-Markern, die mit dem aus *Malus robusta* stammenden P11-Gen für Mehlttauresistenz gekoppelt sind, wird das Verfahren einer "bulk segregant"-Analyse eingesetzt. Zusätzlich zu den "resistenten" und "anfälligen" DNA-Pools, die aus einer für P11 segregierenden Nachkommenschaft entnommen

Fragmente wildartenspezifische DNA-Sequenzen charakterisieren. Die phänotypische Charakterisierung für das Merkmal 'Mehlttauresistenz' wurde nach künstlicher Inokulation mit dem Erreger im Gewächshaus vorgenommen. Hierzu wurden je zwei Klone, die kurz nach der Aussaat durch Veredelung auf die Unterlage M27 hergestellt worden waren, mit einer Sporensuspension des Mehlttauerregers besprüht. Die Auswertung der Boniturwerte bestätigte die erwartete 1:1-Aufspaltung. Nach einem PCR-Screening auf der Basis von mehr als 400 Random-Primern wurden mehrere gekoppelte RAPD-Loci identifiziert. Der Marker OPAT20-450 ist mit etwa 3 % berechneter Rekombinationsfrequenz bereits recht eng mit dem P11-Locus gekoppelt. Die genaue Analyse weiterer potentieller Marker ist noch nicht abgeschlossen. Es wurde auch damit begonnen, RAPD-Marker in SCAR-Marker umzuwandeln. Außerdem wurde ein zweites wichtiges Mehlttauresistenzgen, das P12-Gen aus *M. zumi*, in die Untersuchungen einbezogen.

Für die Kartierung des Vf-Gens aus *M. floribunda* für Schorfresistenz wird eine konventionelle Kartierungsstrategie verwendet, die zusätzlich durch "bulk segregant"-Ansätze ergänzt wird. Als Kartierungspopulation dient die für das Vf-Gen segregierende Population 'J' ('Fiesta' x 'Prima'). Nach Analyse der bislang selektierten RAPD-Marker unter Einbeziehung von qualitativen Boniturdaten für Schorfresistenz wurde eine Kopplungsgruppe identifiziert, die neben dem Vf-Locus vier RAPD-Marker aufweist (Abb. 1). Der Marker OPA15-900, der sehr wahrscheinlich eine aus *M. floribunda* stammende DNA-Sequenz darstellt, ist mit etwa 7 cM Abstand der am engsten gekoppelte Marker. (BAZ-6112)

004

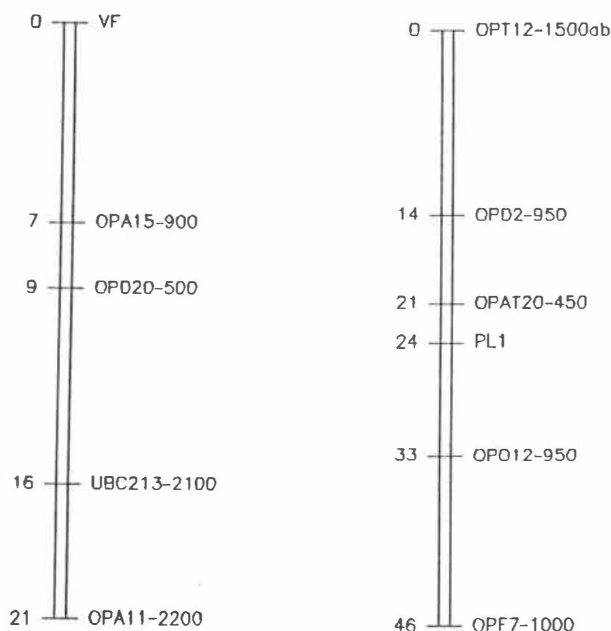


Abb. 1: Pilzresistenztragende Kopplungsgruppen, bestehend aus RAPD-Markern und den Genen Vf für Schorfresistenz (links) und PL1 für Mehlttauresistenz (rechts). Abstände in cM

wurden, werden auch der ursprüngliche Resistenzgen-Donor (A 142/5) und züchterische Zwischenstufen in die Untersuchung einbezogen. Anhand dieser Generationskaskade soll überprüft werden, ob polymorphe RAPD-

1.5. Genetische und molekulargenetische Charakterisierung der kalkbedingten Eisenchlorose bei Rhododendron - Genetic and molecular genetic characterization of the lime induced iron chlorosis in Rhododendron.

Dunemann, F.; Kahnau, R.

Das Anbauggebiet von Rhododendron könnte ohne weitere Erhöhung des Torfverbrauches ausgedehnt werden, wenn kalktolerante Genotypen gezielt durch konventionelle züchterische Verfahren, eventuell ergänzt durch markergestützte Selektionsmethoden, oder über einen gentechnologischen Ansatz geschaffen werden könnten. Neben klassisch-genetischen Analysen soll vor allem eine molekulargenetische Charakterisierung der Kalktoleranz darüber Aufschluß geben, welche der Ansätze zur genetischen Verbesserung auszuwählen sind.

Ausgehend von Rhododendron-Genotypen mit sehr unterschiedlichem Verhalten gegenüber hohen Bicarbonat-Gehalten im Boden wurden im Institut für Zierpflanzenzüchtung Kreuzungsnachkommenschaften erstellt. Auf intraspezifischer Ebene wurde u.a. die Sorte 'Cunningham's White' (CW), die sich durch eine relativ geringe Eisenchloroseneigung auf kalkhaltigem Substrat auszeichnet, mit einem deutlich empfindlicher reagierenden Unterlagen-Klon gekreuzt. Zusätzlich wurden Populationen erstellt, die auf die Kreuzung zwischen Rhododendronarten zurückgehen. Hierfür wurden insbesondere vikariierende Arten wie *Rhododendron hirsutum* und *Rh. ferrugineum* herangezogen.

Die genetische Analyse, die sich bislang auf die aus etwa 200 Individuen bestehende Nachkommenschaft RD 1/2 (CW x Klon 16) konzentrierte, wurde anhand einer in vivo-Streßtestung auf mit 10 g CaCO₃ angereichertem Substrat durchgeführt. Es wurde zunächst eine kontinuierliche Variation der Chloroseausprägung festgestellt. Sowohl Pflanzen mit Chlorosestufe 1 (keine Chlorose) als auch mit Stufe 5 (sehr starke Chlorosen und Nekrosen) wurden beobachtet. Mit der Erstellung einer Genkarte für Rhododendron auf Grundlage der Population 'RD 1/2' wurde begonnen. Etwa 30 RAPD-Marker wurden selektiert und kartiert. Parallel wurde eine RFLP-Kartierung auf der Basis einer aus 500 Klonen bestehenden genomischen BamHI-Bibliothek begonnen. Erste informative RFLP-Sonden konnten identifiziert werden. Die auf der Basis von Einzelpflanzen durchgeführte genetische Analyse soll nach in vivo- und In-vitro-Verklonungen fortgesetzt werden. (BAZ-6126)

005

2. In-vitro-Techniken

2.1. Zur Pflanzenregeneration aus Protoplasten von Gesneriaceae - Plant regeneration from protoplasts of Gesneriaceae

Winkelmann, T.

Vom Botanischen Garten in Hannover wurden 16 *Saintpaulia*-Wildarten zu Verfügung gestellt, in jeweils einem Exemplar pro Art. Diese Arten haben in ihren Herkunftsländern Tansania und Kenia jeweils nur lokale Verbreitung, stammen jedoch beispielsweise aus sehr unter-

schiedlichen Höhenlagen. Diese Wildformen sollen im Hinblick auf ihre Kühltoleranz und auf ihre Reaktion gegenüber Krankheiten und Schaderregern untersucht werden.

Die folgenden 16 *Saintpaulia*-Wildformen standen zur Verfügung: *S. confusa*, *S. difficilis*, *S. diplotricha*, *S. grandifolia*, *S. grotei*, *S. intermedia*, *S. ionantha*, *S. magungensis*, *S. nitida*, *S. orbicularis*, *S. orbicularis* var. *purpurea*, *S. pendula*, *S. rupicola*, *S. shumensis*, *S. tongwensis*, *S. velutina*. Bevor umfangreichere Versuche mit diesen Wildarten durchgeführt werden konnten, war eine Vermehrung der Einzelpflanzen nötig. In vivo wurden zwischen 1,5 und 8,2 Pflanzen je Blattsteckling erhalten. Die Etablierung in vitro gelang ebenfalls für alle Arten. Jeweils 60 oberflächensterilisierte Blattexplantate wurden auf Regenerationsmedium aufgelegt, das 0,8 mg/l IES und 0,4 mg/l BAP enthielt. Die Regenerationsraten zwischen 10 und 98 %, die für die verschiedenen Wildarten ermittelt wurden, ließen sich nicht mit den Vermehrungsraten in vivo korrelieren. Auf hormonfreiem Medium wurden von jeder Art etwa 100 Sprosse bewurzelt.

Unter hohem Befallsdruck im Gewächshaus wurden in Blüten aller Wildarten Blüthenrippe (*Frankliniella occidentalis*) gefunden, mit Ausnahme von *S. magungensis*, die fast keine Blüten gebildet hatte. Die untersuchten Wildarten beinhalten daher wohl keine Quelle für eine wirksame Resistenz gegenüber diesem Schaderreger. Geplant sind jetzt Versuche zur Temperaturtoleranz, die parallel im Gewächshaus und unter in vitro-Bedingungen durchgeführt werden sollen. (BAZ-6101)

006

2.2. Fusion und Transformation bei Gesneriaceae - Fusion and transformation in Gesneriaceae

Naumann, I.; Winkelmann, T.; Grunewaldt, J.

Bei *Saintpaulia ionantha* fehlen im Sortenspektrum Typen mit gelber und roter Blütenfarbe. Diese sind in Arten der verwandten, nicht kreuzbaren Gattung *Episcia* vorhanden. Die Kombination von Kern- und Organellengenom oder -genomteilen ist durch somatische Hybridisierung möglich. Nachdem ein Protoplastenregenerationsystem für beide Arten etabliert wurde, sollen die Bedingungen für die Protoplastenfusion, die anschließende Kultur und die Selektion der Heterofusionsprodukte untersucht und optimiert werden.

Da sich die Protoplasten aus jungen in vitro-Sprossen von *Saintpaulia ionantha* von denen aus in vitro-Blättern von *Episcia*-Arten im mikroskopischen Bild nicht unterscheiden, mußten beide markiert werden, um die Heterofusionsprodukte identifizieren zu können. Als geeignet erwies sich die Anfärbung der *S. ionantha*-Protoplasten mit Rhodaminisothiocyanat (RITC), das eine rote Fluoreszenz vermittelt. Bei gleichzeitiger Markierung der *Episcia*-Protoplasten mit Fluoreszeinisothiocyanat (FITC) mit grüner Fluoreszenz konnten die Heterofusionsprodukte an der doppelten Fluoreszenz erkannt werden.

Versuche zu Kulturmedien und -bedingungen für die chemisch induzierte Fusion ergaben, daß bei zehnminütiger Behandlung mit einer 30 %igen Polyethylenglykol-

(PEG)-Lösung die höchsten Aggregations- und Fusionsfrequenzen erzielt werden. An die PEG-Behandlung schloß sich eine einmalige Nachbehandlung mit einer Lösung mit hohem pH-Wert und hoher Kalziumkonzentration an. Auf diese Weise wurden Heterofusionsfrequenzen von bis zu 5 % erreicht.

Bereits wenige Stunden nach der Fusionsbehandlung waren eine Verbräunung und schließlich das Absterben der Protoplasten zu verzeichnen, so daß sich weiterführende Untersuchungen der möglichst schonenden Behandlung während der Fusion widmen müssen. Zudem ist es nötig, nach der Fusion ein geeignetes Kulturverfahren, möglichst mit Einbettung der Protoplasten in Alginate, zu etablieren. (BAZ-6102)

007

2.3. Zur Pflanzenregeneration aus Protoplasten von *Rosa spec.* - Plant regeneration from protoplasts of *Rosa spec.*

Schum, A.; Hofmann, K.

Protoplastenkulturen bieten gegenüber klassischen Züchtungsverfahren zusätzliche Möglichkeiten, die genetische Variabilität einer Art zu erweitern. Verfahren zur somatischen Hybridisierung und zur Transformation sollen bei Rosen entwickelt werden.

Grundvoraussetzung für dieses neu aufgenommene Vorhaben ist, Pflanzen aus Protoplasten züchterisch interessanter Rosengenotypen regenerieren zu können. Da als Ausgangsmaterial für die Isolierung von Protoplasten unter anderem Zellsuspensionskulturen verwendet werden sollen, wurden zunächst Versuche zur Induktion von Kallus geeigneter Qualität durchgeführt. Die Reaktion von in vitro-Sprossen oder -Fiederblättchen von zehn verschiedenen Genotypen auf die Auxine NES, IES, CPA, 2,4-D, Dicamba und Picloram wurde überprüft. Genotypspezifische Unterschiede traten auf. Zusatz von Picloram zum Nährmedium führte bei den meisten Genotypen zur Entwicklung eines sehr weichen Kallus mit Eignung zur Etablierung von Zellsuspensionskulturen. Solche wurden zunächst von sechs Genotypen in MS-Nährmedien mit 0,5 ppm 2iP und unterschiedlichen Konzentrationen an 2,4-D angelegt. Protoplasten, die aus Zellsuspensionen der Sorte 'Elina' isoliert worden waren, wurden in Alginatefilmen eingebettet und auf Flüssigmedien mit verschiedenen Cytokinin kultiviert. Während bei Verwendung von Adeninsulfat, Kinetin und Zeatin keine Zellteilung einsetzte, kam es in Nährmedien mit 2iP oder BAP zur Entwicklung von Kalli. Diese werden zur Zeit auf ihre Regenerationsfähigkeit untersucht. (BAZ-6124)

008

2.4. Steuerung der somatischen Embryogenese in Bioreaktoren: Kinetik von Phytohormonen und Nährstoffen in embryogenen Zellsuspensionskulturen - Regulation of somatic embryogenesis in bioreactors: Kinetics of phytohormones and nutrients in embryogenic cell suspension cultures

Junge, H.; Preil, W.; Henning, J.; Schneiderei, 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 exogene Steuerung embryogener Differenzierungsprozesse in Suspensionskulturen verläuft jedoch noch unbefriedigend. Die Kenntnis des Bedarfes an organischen und anorganischen Mediumkomponenten in den verschiedenen Phasen der Embryoentwicklung könnte zukünftig eine gezielte, automatisierte Versorgung der Kulturen ermöglichen.

Die aufgenommenen Untersuchungen zur Phytohormon- und Nährstoffkinetik im Medium embryogener Suspensionskulturen von *Euphorbia pulcherrima* konzentrierten sich einerseits auf die Verbesserung der verfahrenstechnischen Führung von "Batch"- bzw. semikontinuierlichen Bioreaktoransätzen. Zum anderen wurden Bedingungen für die HPLC-Analyse der wichtigsten eingesetzten Phytohormone [1-Naphthyllessigsäure (NAA), 4-Chlorophenoxyessigsäure (CPA), Isopentenyladenin (2iP) und Abscisinsäure (ABA)] in den Kulturmedien entwickelt: Eine Trennung der oben genannten Wachstumsregulatoren gelang über Ionenpaarchromatografie auf einer SUPELCOSIL LC-8-DB-Säule (SUPELCO) im Fließmittelsystem Acetonitril/1%ige Essigsäure (30/70, v/v), enthaltend 1mmol Tetrabutylammoniumphosphat L⁻¹. Die Erfassungsgrenzen lagen bei 100 bis 200 nmol L⁻¹ je Komponente. Die notwendigen Reinigungs- und Aufkonzentrierungsschritte der Proben erfolgten zuvor über C₁₈-Kartuschen mit anschließender Einengung im Vakuum. Für Kulturfiltrate aus Wachstumsphasen mit hoher Zelldichte erwiesen sich die Bedingungen für die Festphasenextraktion bei 2iP hinsichtlich Reproduzierbarkeit und Wiederfindungsrate als noch nicht ausreichend, sondern bedürfen der weiteren Optimierung. (BAZ-6103)

009

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

Meier, K.; Preil, W.

*Die Verwendung von flüssigen Nährmedien bei der in vitro-Pflanzenvermehrung bietet gegenüber der Kultur auf verfestigten Nährböden zahlreiche Vorteile, die insbesondere in einer leichteren Versorgung mit Nährstoffen liegen und durch Automatisierung des Kulturablaufes zur Kostenreduzierung führen können. Als Modellpflanze zur Erzeugung organogener Kulturen in Bioreaktoren wurde die Topfpflanze *Anthurium scherzerianum* gewählt, die eine Spitzenposition in der in vitro-Zierpflanzenherzeugung in Deutschland einnimmt.*

Im Vordergrund der Untersuchungen stand die Anpassung von auf festem Vermehrungsmedium kultivierten multimeristematischen Aggregaten an die veränderten Bedingungen der Suspensionskultur. Nach Abtrennung der Sprosse wurde zu diesem Zweck der basale Kallus unter möglichst geringer Verletzung der verbliebenen Sproßanlagen in Segmente von ca. 0,5 cm Durchmesser

zerteilt und in Erlenmeyerkolben mit Flüssigmedium überführt. Zur Ermittlung des Nährstoffbedarfes der Kulturen erfolgte der Austausch des Mediums in Intervallen von 1, 2, 3 oder 4 Wochen. Leitfähigkeitsmessungen, die zur Charakterisierung des Nährstoffverbrauches herangezogen werden können, ergaben $3080 \mu\text{S cm}^{-1}$ zu Beginn der Kultur und nur $150 \mu\text{S cm}^{-1}$ nach vierwöchiger Kulturzeit. Das Frischgewicht der Explantate in 30 ml Medium verdoppelte sich in diesem Zeitraum von 2 auf 4 Gramm. Bei wöchentlichem Mediumwechsel wurde dagegen eine Zunahme auf das Fünffache erzielt. Eine Steigerung des Nitratangebotes führte innerhalb eines Monats bei wöchentlichem Mediumwechsel zur Erhöhung des Frischgewichtes auf das Achtfache. Diese Ergebnisse konnten in Versuchsansätzen mit größeren Ausgangsfrischgewichten und Medienvolumina bestätigt werden. Damit wurden die Voraussetzungen für die Optimierung der Organogenesesteuerung im Bioreaktor geschaffen. (BAZ-6127)

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

010

2.6. Einfluß extrazellulärer Glycoproteine auf die somatische Embryogenese bei *Euphorbia pulcherrima* - Influence of extracellular glycoproteins on somatic embryogenesis of *Euphorbia pulcherrima*

Brandau, K.; Preil, W.

Zellen pflanzlicher Suspensionskulturen geben niedermolekulare und hochmolekulare Substanzen an das Medium ab und beeinflussen damit den weiteren Kulturverlauf. Eine positive Wirkung auf die somatische Embryogenese wird insbesondere den extrazellulären Glycoproteinen zugeschrieben. Durch die Analyse der Glykoproteine im Nährmedium embryogener und nicht-embryogener Suspensionskulturen sollen regulatorisch wirksame Komponenten erfaßt und ihre biotechnologische Nutzbarkeit untersucht werden.

Zur Charakterisierung der im Medium befindlichen Glycoproteine über deren Zuckerspezifitäten wurde das Bindungsvermögen verschiedener Lectine mit Glycoproteinen aus embryogenen und nicht-embryogenen Suspensionskulturen mit Hilfe von Dot Blots getestet. Eine gut nachweisbare Reaktion erfolgte nur mit Lectinen, die mit Mannose und Glucoseresten im Glycoprotein reagieren.

Es konnte eine Methode etabliert werden, die die Isolierung extrazellulärer Concanavalin A-(= Con A)-spezifischer Glycoproteine aus dem Medium in größeren Mengen erlaubt. Nach Ammoniumsulfatfällung der extrazellulären Proteine erfolgte eine Konzentrierung der Proben über Ultrafiltration. Um Con A-spezifische Glycoproteine über Affinitätschromatografie zu isolieren, mußte die Gesamtproteinfraktion zunächst über Gelfiltration gereinigt und in der Ultrafiltration nochmals dialysiert und konzentriert werden. Mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung wurde eine sehr gute Auftrennung des Bandenmusters entwickelt, die eine genaue Charakterisierung der isolierten Proteinfraktionen ermöglicht. Somit ist die Voraussetzung für Versuche geschaffen, in denen unterschiedliche Protein- und Glycoproteinfrak-

tionen embryogenen Kulturen zugesetzt werden sollen, um deren Einfluß auf den Verlauf der somatischen Embryogenese zu analysieren.

Untersuchungen des konditionierten Mediums embryogener und nicht-embryogener Suspensionskulturen ergaben deutliche Unterschiede in Proteinzusammensetzung und -konzentration sowie der Aktivität extrazellulärer Enzyme. Das Maximum der Aktivität extrazellulärer β -Glucosidasen korreliert in nicht-embryogenen Suspensionen mit der log Phase des Zellwachstums und nimmt nach Erreichen der stationären Phase schnell wieder ab. In embryogenen Suspensionen steigt sie bis zum 14. Kulturtag linear an und bleibt für den Rest der Kulturdauer auf einem gleichbleibend hohen Niveau.

Bei embryogenen Suspensionen steigt die extrazelluläre Peroxidase-Aktivität trotz geringen Zellwachstums zu Beginn der Kultur linear an. Zeitgleich entstehen die ersten embryogenen Stadien. Bei nicht-embryogenen Suspensionen bleibt die Peroxidase-Aktivität über mindestens 7 Tage auf einem sehr niedrigen Niveau. Bezogen auf das Trockengewicht der Zellen ist die Peroxidase-Aktivität in embryogenen Kulturen wesentlich höher als in nicht-embryogenen (7. Kulturtag: nicht-embryogene Suspension 40-60 U/g TG, embryogene Suspension 1100-3500 U/g TG). Da in embryogenen Suspensionen die hohe Peroxidase-Aktivität mit dem Erscheinen erster embryogener Stadien zusammenfällt, wird ein Zusammenhang zwischen dem Auftreten des Enzyms und der Entstehung embryogener Stadien vermutet. (BAZ-6108)

In Zusammenarbeit mit: Lieberei, Inst. f. Angewandte Botanik, Univ. Hamburg

011

2.7. Untersuchungen an organogenen und embryogenen Zellsuspensionen in Bioreaktoren zur Entwicklung neuer Vermehrungstechniken bei Gehölzen - Investigations on organogenic and embryogenic cell suspensions in bioreactors with the aim to develop multiplication techniques in woody species

Weber, J.; Preil, W.

Am Ziergehölz Clematis tangutica werden die Einsatzmöglichkeiten von Bioreaktoren für die Massenvermehrung von Elitepflanzen durch embryogene Zellsuspensionskulturen untersucht. Die Vorteile von Kulturen in Flüssigmedien liegen unter anderem in den Möglichkeiten zur Automatisierung der Nährstoffzufuhr und führen somit zur Reduzierung der Produktionskosten.

Als Abschluß der 1993 begonnenen Arbeiten wurde der Verbrauch stickstoffhaltiger Nährmedienskomponenten in embryogenen Zellsuspensionen bei semikontinuierlicher Bioreaktor-Kulturführung ionenchromatographisch ermittelt. Während der 14tägigen Subkulturdauer stieg die Zelldichte (gemessen als Sediment) regelmäßig von 20 % auf 30 % an. Die Analyse des Ammoniums und Nitrats zeigte, daß beide Stickstoffverbindungen in kurzer Zeit zu einem erheblichen Teil von den Zellen aufgenommen werden. Die Abnahme von Ammonium betrug während

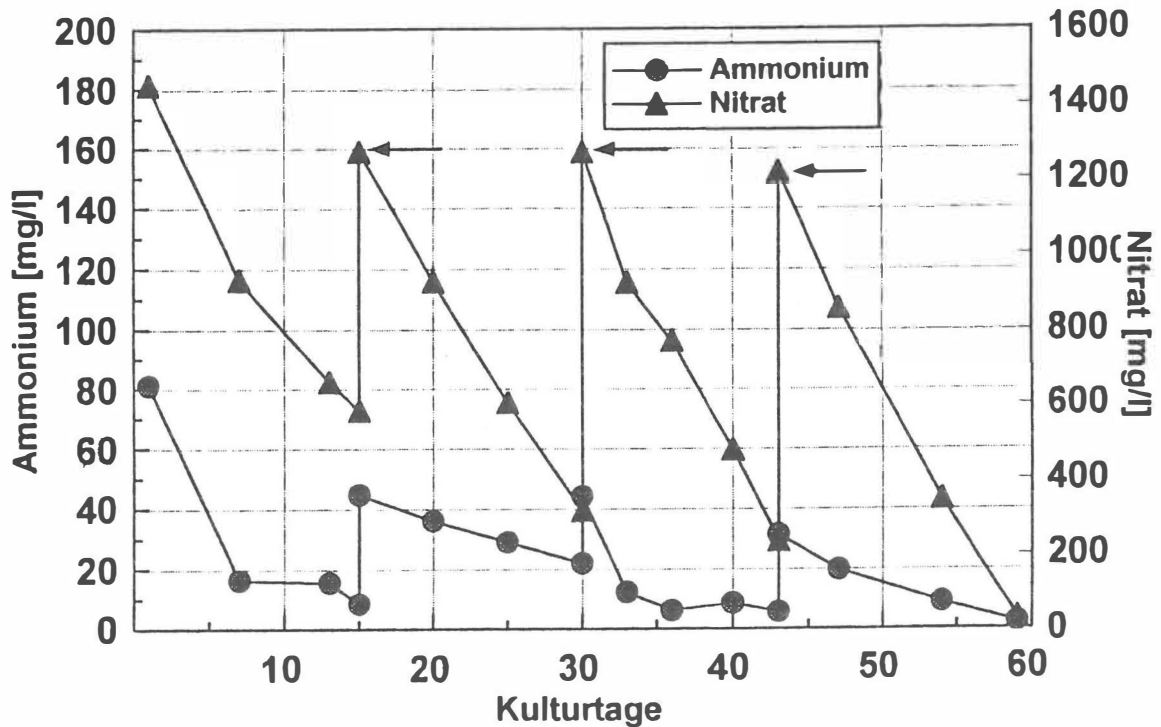


Abb. 1: Kinetik des Ammonium- und Nitrat-Verbrauches einer *Clematis tangutica*-Bioreaktorkultur bei semikontinuierlicher Kulturführung. Nährmedienaustausch erfolgte in zweiwöchigen Intervallen (Pfeile)

der Subkultivierung ca. 75 %, die von Nitrat mehr als 90 % (Abb. 1).

In parallel durchgeführten Erlenmeyerkolben-Kulturen wurde die Wirkung unterschiedlicher Anteile von Ammonium, Nitrat sowie Glutamin als organische Stickstoffquelle auf die Embryogenese untersucht. Hierfür wurden proembryogene Zellaggregate in auxinfreies Medium mit variierendem Stickstoffangebot überführt. Im ersten Versuchsabschnitt erfolgte die Stickstoff-Zugabe entweder als Nitrat, als Ammonium oder als Glutamin (jeweils 44 mM N), während in einer zweiten Versuchsserie bei konstanter Glutaminkonzentration (17 mM) die prozentualen Anteile von Ammonium : Nitrat von 0 : 100 bis 100 : 0 (Gesamt: 27 mM anorganischer Stickstoff) variierten. Im dritten Versuchsabschnitt wurden die prozentualen Anteile der anorganischen und organischen N-Quellen verändert ($N_{\text{ANORG}} : N_{\text{ORG}}$ von 100 : 0 bis 0 : 100), wobei in der anorganischen Komponente das Ammonium-Nitrat-Verhältnis konstant (10 : 90) blieb.

Die Ergebnisse zeigten, daß Ammonium als alleinige Stickstoffquelle die Differenzierung der Embryonen hemmt. Bei ausschließlicher Glutamin- bzw. Nitrat-Versorgung kam es zu einer starken Biomassezunahme mit nur vereinzelter Bildung von Embryonen. Bei unterschiedlichen Ammonium-Nitrat-Anteilen und konstanter Glutaminkonzentration war bei hohem Nitratangebot eine verstärkte Biomassezunahme, bei hohem Ammoniumanteil eine stärkere Differenzierung zu beobachten. In der dritten Versuchsserie führten geringe Glutaminkonzentrationen innerhalb der sechsmonatigen Kulturdauer zur Differenzierung zahlreicher Embryonen im Herz- bzw. Torpedostadium und vereinzelter Embryonen im Kotletonstadium. Erhöhte Glutaminkonzentrationen

dagegen hemmten die Differenzierung und förderten die Biomassebildung. (BAZ-6105)

In Zusammenarbeit mit: Lieberei, Inst. f. Angewandte Botanik, Univ. Hamburg; Spethmann, Inst. f. Obstbau und Baumschule (Sarstedt), Univ. Hannover
Das Forschungsvorhaben ist abgeschlossen.
012

3. Resistenz

3.1. Untersuchungen zur Resistenz von Rosenunterlagen gegen Bodenmüdigkeit - Investigations on resistance of rose rootstock to replant disease Dohm, A.; Drewes-Alvarez, R.; Felten, R.

Nachbaustörungen in Rosenfreilandkulturen kann bislang durch Felderwechsel und chemische Entseuchungsmittel begegnet werden. Doch mit wachsendem Umweltbewußtsein muß der Einsatz chemischer Bodenentseuchungsmittel eingeschränkt werden, so daß Alternativen erforderlich sind. Üblicherweise wird in Deutschland auf drei Unterlagen veredelt: Rosa canina 'Inermis', R. canina 'Pfänder' und R. corymbifera 'Laxa'. Ob andere Rosenarten widerstandsfähiger gegen den Faktorenkomplex der Nachbaustörungen sind, ist nicht bekannt. Aus diesem Grund sollte ein breites Sortiment verschiedener Rosenarten geprüft werden.

Im Mai 1993 wurde ein Freilandversuch auf einem Feld mit langjähriger Rosenkultur angelegt. Neben verschiedenen *Rosa multiflora*-Genotypen wurden weitere Rosenunterlagen und Wildrosen, die von einigen Baumschulen zur Verfügung gestellt worden waren, aufgeführt. 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 'Triebblängen'. Alle *R. multiflora*-Klone zeigten auf den unbehandelten bodenmüden Flächen deutlich schwächeres Wachstum als auf den chemisch entseuchten. Keine Beeinträchtigung des Wachstums auf den ersteren war jedoch bei je einer Sämlingsnachkommenschaft von *R. canina* und *R. arvensis* festzustellen. Demnach ist in dem getesteten Rosensortiment Variabilität hinsichtlich der Empfindlichkeit gegenüber Nachbau vorhanden. (BAZ-6120)

In Zusammenarbeit mit: Firma W. Kordes' Söhne Rosenschulen GmbH & Co KG, Klein Offenseth Sparrieshoop; H. Lösing, Versuchs- und Beratungsring Baumschulen e.V. Schleswig-Holstein, Pinneberg

013

3.2. Ermittlung von Resistenzträgern bei Rosenarten gegen tierische Schaderreger und Übertragung der Resistenzen in Sortenzuchtmaterial - Selection of resistance to animal pests in rose species and transfer of resistances into breeding material

Sauer, A.

Eine Grundvoraussetzung für eine Züchtung auf Resistenz ist die Erfassung natürlich vorkommender Resistenzquellen, die in den Wildarten und alten Sorten vorhanden sind.

Die ungünstige Witterung des Frühjahres 1994 mit den lang anhaltenden Regenfällen und kühlen Temperaturen verzögerte die Entwicklung der tierischen Schaderreger. Eine geringe Besiedlung mit Blattläusen, die schon Ende Februar im Freiland beobachtet werden konnte, brach nach einem stärkeren Frost wieder zusammen. Durch Spätfröste froren letztjährige Rosentriebe stark zurück. Eine Bonitur der Rosen an den Standorten in Ahrensburg erfolgte Ende Juni. Nur an *Rosa rubiginosa* und *R. hugonis* konnte ein starker Befall mit *Macrosiphum rosae* gefunden werden. Für die übrigen Arten und Sorten war eine differenzierte Bonitur nicht möglich, es fanden sich an fast allen frischen Trieben Läuse, die aber nur wenig Nachkommen produzierten.

Bonituren in den Rosarien Uetersen, Dortmund, Kassel und Sangerhausen zeigten ähnliche Ergebnisse wie in Ahrensburg. Es gab keinen so starken Befall mit Läusen wie im Vorjahr. Die im vergangenen Jahr aufgetretenen Schädigungen durch die Rosenzikade *Typhlocyba rosae*, die Blattrollwespe *Blennocampa pusilla* und den Rosenwickler *Cacoecia forskaleana* waren sowohl in Ahrensburg als auch in den Rosarien zu gering, um eine Differentialdiagnose zu erhalten. Dafür trat ein Triebbohrer (*Ardis* spec.) auf, der sporadisch Schäden verursachen kann. Es konnten keine art- oder sortenspezifischen Befallsunterschiede beobachtet werden.

Neben den Beobachtungen über arten- und sortenbedingte Unterschiede ist auch die Kenntnis über die Besiedlung mit den in Frage kommenden Arten der Schaderre-

ger von Bedeutung. Aus dem Intensivanbau unter Glas ist bekannt, daß Rosenblüten verstärkt von *Frankliniella occidentalis* befallen werden können.

Es sollte die Frage geklärt werden, ob unter den für die Entwicklung von Thripsen günstigen Klimabedingungen 1994 *F. occidentalis* auch im Freiland auftritt. Obwohl keine Blütenschäden durch Thripse zu beobachten waren, wurden ab Ende Juni, mit dem Anstieg der Tagestemperaturen, Thripse gefunden.

In der Zeit von Mitte Juli bis Ende August konnten von 60 Sorten und zwei Wildarten, *R. multibracteata* und *R. stellata mirifica*, die noch bis Ende Juli blühten, bei 462 Blüten und Knospen über 14500 Imagines identifiziert und 1513 präimaginale Stadien gesammelt werden. Die Bestimmung der Thripse ergab, daß Rosenblüten im Freiland von etwa vierzehn verschiedenen Thysanopteren-Arten besiedelt wurden, am häufigsten waren dies *Thrips major*, *Frankliniella intonsa* und *Taeniothrips atratus*. *F. occidentalis* trat nur auf einer Pflanzung auf, die in der Nähe von Gewächshäusern gelegen ist. Hier war jedoch die Besiedlung so gering, daß sie vernachlässigt werden kann.

Eine alte Rosensorte mit karminfarbenen, dicht gefüllten Blüten blieb während des Beobachtungszeitraumes fast ohne Befall durch Thysanopteren, während in der Nähe andere, fast weiß blühende Sorten eine 3- bis 6-fach so hohe Besiedlung aufwiesen.

Zusammen mit den Beobachtungen über Thripsbefall wurden auch Nützlinge in den Blüten erfaßt. Neben Schweb- und Florfliegenlarven traten Raubwanzen, vor allem *Orius* spec., auf. Diese reduzierten den Besatz teilweise auf die Hälfte der Thripspopulation einer Blüte. Die Populationen der Nützlinge nahmen in diesem Jahr weiter zu. Laufkäfer, Marienkäfer, Schwebfliegen und vor allen Dingen Spinnen konnten verstärkt gefunden werden.

Die Kollektion von Rosen-Wildarten und -Sorten wurde im Frühjahr 1994 um sechzehn Arten und sieben Sorten ergänzt, so daß jetzt von 65 Arten und 57 Sorten 1200 Pflanzen aufgepflanzt sind. Die fünf Nachkommenschaften aus freier Abblüte und Klone aus den Sektionen *Cinnamomeae*, *Pimpinellifoliae* und *Synstylae* werden 1995 in die Prüfung auf Resistenzeigenschaften einbezogen. (BAZ-6117)

014

3.3. Grundlagen der Züchtung von *Erica gracilis*: Untersuchungen zur Resistenz gegenüber *Cylindrocladium scoparium* - Basis of breeding *Erica gracilis*: investigations on the resistance to *Cylindrocladium scoparium*

Krüger, J.; Stielau, E.; Gasché, B.

Cylindrocladium scoparium, der Erreger der Wurzelhalsfäule, kann in *Erica gracilis*-Kulturen zu erheblichen Ausfällen und damit zu einem großen wirtschaftlichen Verlust führen (Abb. 1). Um eine Resistenzzüchtung gegen diesen Pilz sinnvoll durchführen zu können, ist eine Testmethode notwendig, die es ermöglicht, große Zahlen von *Erica*-Pflanzen in kurzer Zeit zu infizieren. Die Erarbeitung einer solchen Methode war das Ziel verschiedener Infektionsversuche.

Die Anzucht des Infektionsmaterials erfolgte auf Agar-Nährboden in Petrischalen, in Flüssigkultur auf dem Schüttler sowie auf Roggenkörnern. Als Pilzkultur wurde das Isolat E62 aus Weihenstephan sowie ein Isolat, das von Ahrensburger Eriken gewonnen wurde, verwendet. Die anfällige *Erica*-Sorte 'Glaser's Rote' wurde mit verschiedenen Verfahren inokuliert. Entweder wurde Suspension aus Petrischalen- oder Flüssigkultur gewonnen, an den verletzten oder unverletzten Stammgrund mit einer Pipette aufgebracht, auf der Erdoberfläche der Töpfe verteilt oder infizierte und getrocknete Körner gemahlen und als Pulver an den Stammgrund gegeben oder der Erde beigemischt. Die infizierten Pflanzen standen im Gewächshaus bei 21° C tags und 16° C nachts. Ein Teil der Pflanzen war mit einem Folienkasten abgedeckt, um eine hohe Luftfeuchtigkeit zu halten. Sechs Wochen lang erfolgten die Bonituren im Wochenabstand. Alle verwendeten Methoden führten zu Befall. Mit Verletzung erfolgte die Erkrankung i. a. etwas schneller. Infektionen über den Boden und mit Roggenkörnermehl waren langsamer als mit Suspensionen oder über den Wurzelhals. Eine Wiederholung mit älteren Pflanzen zu einem anderen Zeitpunkt erbrachte weitgehend die gleichen Ergebnisse. Als geeignete Methode für eine Masseninfektion von *Erica*-Pflanzen mit *Cylindrocladium scoparium* im Rahmen einer Resistenzzüchtung gegen diesen Pilz wird die Inokulation am unverletzten Stammgrund mit einer Pilzsuspension angesehen. Diese läßt sich am zweckmäßigsten in einer Schüttelkultur, in der Mycel in ausreichender Menge produziert wird, gewinnen. (BAZ-6106)

015

3.4. Züchtung von Rhododendron-Veredlungsunterlagen: Untersuchungen zur Fe-Mangel-Chlorose und Entwicklung von Verfahren zur Selektion auf Fe-Chlorose-Resistenz - Breeding of Rhododendron rootstocks: Investigations on Fe-deficiency chlorosis and development of selection methods for Fe-chlorosis resistance

3.4.1. Toleranzgrenzen für HCO_3^- bei selektierten Unterlagen-Klonen - Limits for HCO_3^- concentration in selected rootstocks

Chaanin, A.; Preil, W.; Ebbinghaus, R.

Die Widerstandsfähigkeit gegenüber erhöhten HCO_3^- -Konzentrationen kann zur Charakterisierung der Kalktoleranz herangezogen werden. Selektierte Unterlagen-Klone wurden daher in Gefäßversuchen unterschiedlichen CaCO_3 -Konzentrationen ausgesetzt, um HCO_3^- -Toleranzbereiche für den Anbau in der Baumschulpraxis festsetzen zu können.

Die Verwendung von Torf-Nadelerde-Substrat, dem 1; 5 und 10 g CaCO_3 /l zugegeben wurden, erwies sich für Kurzzeitversuche von etwa 3 Monaten als gut geeignet. Bei der Prüfung von fünf Eliteklonen (Rh 10, Rh 16, Rh 35, Rh 37, Rh 42) und der Kontrollsorte 'Cunningham's White' (CW) wurde festgestellt, daß die Behandlung mit 5 g/l CaCO_3 (entsprechend 310 mg/l HCO_3^- am Versuchsende) im Vergleich zu 1 g/l CaCO_3 bei allen untersuchten Genotypen zur Abnahme des Sproß- und Wurzelwachstums führte. Der prozentuale Rückgang war bei CW am höchsten (Sproßgewicht: -53 %; Wurzelvolu-



Abb. 1: Gesunde (links) und an Wurzelhalsfäule erkrankte *Erica gracilis*-Pflanzen

men: -58 %). Alle Eliteklone zeigten dagegen eine deutlich geringere Beeinträchtigung (Abb. 1). Zum Beispiel wurde beim Klon Rh 42 eine Reduzierung des Sproßgewichtes und Wurzelvolumens von nur 17 % bzw. 20 % ermittelt (Tab. 1).



Abb. 1: Wirkung unterschiedlicher CaCO_3 -Gehalte im Substrat (von links nach rechts, jeweils zwei Pflanzen: 1; 5 und 10 g/l CaCO_3) auf das Wachstum von Rhododendrongenotyp Rh 35

Tab. 1: Wurzelvolumen und Sproßfrischgewicht bei in vitro vermehrten Rhododendron-Unterlagenklonen (Rh 10 bis Rh 42) und der Kontrollsorte 'Cunningham's White' (CW) in Abhängigkeit vom CaCO_3 -Gehalt im Torf-Nadelerde-Substrat nach dreimonatiger Streßdauer

Klon	CaCO_3 (g/l)	Wurzelvolumen		Sproßfrischgewicht	
		ml	%	g	%
CW	1	168	100	24,2	100
	5	70	42	11,3	47
	10	44	26	6,4	26
Rh 10	1	137	100	17,2	100
	5	108	79	17,7	103
	10	31	23	8,3	48
Rh 16	1	196	100	40,0	100
	5	133	68	23,9	60
	10	64	33	14,0	35
Rh 35	1	169	100	28,6	100
	5	98	58	17,0	59
	10	34	20	9,3	33
Rh 37	1	199	100	36,6	100
	5	150	75	27,8	76
	10	55	28	12,0	33
Rh 42	1	171	100	23,6	100
	5	137	80	19,5	83
	10	38	22	8,2	35

Substrate mit 10 g/l CaCO_3 (ca. 590 mg/l HCO_3^-) hemmten das Wachstum bei allen Genotypen völlig. Die Versuche zeigten eine deutliche Überlegenheit der Eliteklone gegenüber der Kontrollsorte 'Cunningham's White' im Konzentrationsbereich von 350 bis 400 mg/l HCO_3^- . (BAZ-6109)

016

3.4.2. Optimierung von Selektionsverfahren auf Kalktoleranz - Optimization of selection methods for lime tolerance

Chaanin, A.; Preil, W.

Die Verwendung kalktoleranter Veredelungsunterlagen ermöglicht die Reduzierung des Torfverbrauches und trägt damit zur Schonung der Naturressourcen bei. Darüber hinaus können die Absatzgebiete für die Baumschulpraxis erweitert werden. Zur Optimierung bisheriger Selektionsverfahren sollen in vitro- und in vivo-Methoden gegenübergestellt und ihre Effizienz verglichen werden.

Kreuzungsnachkommenschaften der Eliteklone Rh 10 und Rh 16 mit 'Cunningham's White' (CW) wurden in vitro auf HCO_3^- -haltigen Nährmedien (10 und 15 mM NaHCO_3) und im Gewächshaus auf mit CaCO_3 angereichertem Torf-Nadelerde-Substrat (1; 5 und 10 g/l CaCO_3) getestet.

In vitro entwickelten die Sämlinge auf beiden NaHCO_3 -Konzentrationsstufen nur in wenigen Einzelfällen Wurzeln. Der überwiegende Teil bildete nach der Keimung lediglich grüne Keimblätter aus und starb innerhalb von 3 Monaten ab. Im Gewächshaus zeigten die Sämlinge auf CaCO_3 -haltigen Substraten nach sechswöchiger Streßdauer deutliche Fe-Chlorose-Symptome an den jungen Blättern. Bei der Bonitierung nach einer 5 Stufen-Skala (1 = grün, 5 = nekrotisch) konnte festgestellt werden, daß die Anzahl der Sämlinge mit den Boniturstufen 4 und 5 erwartungsgemäß unter dem Einfluß von 10 g/l CaCO_3 deutlich höher war als bei 5 g/l CaCO_3 . Die Untersuchung der Wurzelbildung bei den Boniturstufen 1 und 2 ergab, daß Pflanzen, die 10 g/l CaCO_3 ausgesetzt worden waren, nur wenige Wurzeln bildeten, während die Kontrollpflanzen (1 g/l CaCO_3 Substrat) in dieser Zeit das Substrat völlig durchwurzeln. Somit führten die Testreihen in vitro und in vivo zu vergleichbaren Ergebnissen, wobei der experimentelle Aufwand in vitro jedoch erheblich höher war. Bei den In-vivo-Versuchen mußte lediglich während der gesamten Kulturdauer sichergestellt werden, daß kein Verlust von HCO_3^- durch Auswaschung auftrat. Bei zukünftigen Untersuchungen wird der In-vivo-Selektion auf Kalktoleranz der Vorzug gegeben. (BAZ-6109)

017

3.5. Untersuchungen zur Resistenz von Erdbeeren gegen *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* - Investigations on the resistance of strawberry to *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*

3.5.1. Selektion resistenten Ausgangsmaterials - Selection of resistant basic material Scheewe, P.; Rockstroh, K.

Grundlagen für eine effektive Resistenzzüchtung gegen *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* bei Erdbeeren sind Informationen über das Resistenzverhalten von Erdbeergenotypen und eine effektive Testmethode.

Im Rahmen der Untersuchungen sollte festgestellt werden, ob in Deutschland verschiedene Rassen von *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* vorkommen. Die verwendeten Pilzisolat wurden von verschiedenen Institutionen zur Verfügung gestellt bzw. stammen aus eigenen Isolierungen aus verschiedenen Erdbeeranbauregionen. Dabei erfolgte die Isolierung direkt aus befallenen Erdbeerpflanzen oder über Fangpflanzen. Von allen Isolaten wurden Einzelsporkulturen hergestellt. Die Auswahl der für die Testungen verwendeten Erdbeergenotypen (Sorten und *Fragaria chiloensis*-Klone) erfolgte in Anlehnung an Genotypen, die bereits in Differentialsortimenten verwendet wurden. Zusätzlich wurden weitere Genotypen in die Untersuchung einbezogen, von denen aus der Literatur Unterschiede in der Anfälligkeit gegenüber *P. fragariae* var. *fragariae* bekannt sind. 16 verschiedene Genotypen wurden bezüglich ihrer Reaktion auf 12 Pilzisolat getestet. Für die Testung wurde eine in vitro-Selektionsmethode entwickelt, die die Verwendung einer definierten Konzentration von Zoosporen beinhaltet. Die Auswertung erfolgte durch mikroskopische Untersuchung auf Bildung von Oosporen in den Wurzeln. Es zeigten sich deutliche Unterschiede zwischen einzelnen Sorte-Isolat-Kombinationen. Erste Hinweise auf das Vorkommen verschiedener Rassen von *P. fragariae* var. *fragariae* in Deutschland konnten bestätigt werden. Beispielsweise reagierte die im Anbau vielfach verwendete Sorte 'Korona' unterschiedlich auf die getesteten Isolate. Während sie gegenüber einigen Isolat als anfällig eingestuft werden mußte, reagierte sie gegenüber anderen Isolat resistent. Eine regionale Beschränkung einzelner Rassen kann aus den bisherigen Ergebnissen nicht abgeleitet werden. Daraus ergibt sich, daß für eine effektive Resistenzzüchtung alle in Deutschland bisher identifizierten Rassen einbezogen werden sollten. (BAZ- 6118)

In Zusammenarbeit mit: Fa. Sengana Plantagen, Ahrensburg; Fa. Kraege, Telgte

018

3.5.2. Untersuchungen zum Rassenspektrum von *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*, dem Erreger der Roten Wurzelfäule an Erdbeeren - Investigations on races of *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*; causal agent of red stele disease in strawberry

Schneider, J.; Scheewe, P.

Für die Identifizierung von Rassen von *Phytophthora fragariae* var. *fragariae* gibt es bisher kein international anerkanntes Differentialsortiment und keine Standard-Testmethoden. Vergleichende Untersuchungen mit definierten Rassen aus verschiedenen Ländern führten teilweise zu unterschiedlichen Aussagen bezüglich Resistenz und Anfälligkeit einzelner Sorte-Rasse-Kombinationen. Hinweise auf mögliche Ursachen für diese unterschiedli-

chen Aussagen kann ein Vergleich verschiedener Inokulationsmethoden bringen.

Im Rahmen der Untersuchungen wurden zwei verschiedene neuere Inokulationsmethoden (nach MILHOLLAND und nach KENNEDY) in abgewandelter Form verglichen. Zur Differenzierung wurden zehn verschiedene Erdbeersorten oder *Fragaria chiloensis*-Klone eingesetzt. Von zwei Sorten wurden zusätzlich jeweils zwei verschiedene Herkünfte untersucht. Die Testung erfolgte mit drei verschiedenen Einzelsporisolen von *Phytophthora fragariae* var. *fragariae*, von denen zwei bereits als unterschiedliche Rassen bestimmt wurden. Als Pflanzenmaterial dienten junge Ausläuferpflanzen mit einem definierten Wurzelalter. Die Auswertung erfolgte für beide Methoden durch mikroskopische Untersuchung der Wurzeln auf Oosporen, jeweils nach einer Inkubationszeit von zwei Wochen. Aus den Daten wurde ein Befallsindex errechnet. Insgesamt wurden geringfügige Unterschiede zwischen beiden Methoden beobachtet. Die Tendenzen in den Reaktionen der Erdbeergenotypen auf die drei Isolate von *P. fragariae* var. *fragariae* waren insgesamt einheitlich. Die statistische Auswertung ergab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Inokulationsmethoden bei den untersuchten Sorte-Isolat-Kombinationen. Aufgrund der Ergebnisse konnten die drei Isolate von *P. fragariae* var. *fragariae* bei beiden Inokulationsmethoden unterschieden werden. (BAZ-6118)

In Zusammenarbeit mit: Schickedanz, Inst. f. Angewandte Botanik, Univ. Hamburg
019

3.6. Nachweis einer Kopplung der vier Resistenzgene 'M₁', 'M₂', 'M₃' und 'M₄' gegen den Falschen Mehltau bei Spinat - Detection of a linkage of the mildew resistance genes 'M₁', 'M₂', 'M₃' and 'M₄' in spinach

Handke, S.; Radies, M.; Seehaus, H.

Das in der ehemaligen Bundesforschungsanstalt für Gartenbauliche Pflanzenzüchtung 1977 begonnene Forschungsvorhaben zur Kombination aller aktuellen Resistenzen gegen den Falschen Mehltau und das Gurkenmosaikvirus für die Züchtung von F₁-Sorten bei Spinat wurde erfolgreich abgeschlossen.

Nachdem im Vorjahr in dem F₃-Stamm '92-194/6' die Kopplung der drei Resistenzgene 'M₁', 'M₂' und 'M₃' nachgewiesen wurde, ergab sich die Frage, ob zusätzlich auch Resistenz gegen den 1990 erstmalig aufgetretenen Pathotyp 4 des Falschen Mehltaus vorhanden war. Für diese Prüfung wurden 28 Individuen der Geschwister-Einzelpflanzennachkommenschaften '92/194/3' einer Inokulation mit dem Pathotyp des Falschen Mehltaus (*Peronospora spinaciae*) unterzogen. Alle 28 Pflanzen erwiesen sich als resistent. Außerdem wurden sechs R₁-Nachkommenschaften (Nk) mit dem Pathotyp NL4 inokuliert. Die sechs R₁-Nk stammen von einer Rückkreuzung der F₁ [('92-194' x der anfälligen Sorte 'Spica') x 'Spica']. Das Material hatte schon im Vorjahr eine 1:1 Spaltung von anfälligen zu resistenten Pflanzen gegen die Pathotypen D1, D2 und D3 gezeigt. Bei fünf der mit

NL4 geprüften R₁-Nk gelang die statistische Sicherung einer 1:1 Spaltung in anfällige und resistente Pflanzen (P %: > 20-50).

Die Ergebnisse der 1993 und 1994 durchgeführten Untersuchungen bestätigen die Kopplung der vier Resistenzgene 'M₁' bis 'M₄' im Stamm '92-194'. Mit der Vergabe der Nutzungsrechte wurde dieses Basismaterial der Praxis zur Verfügung gestellt. (LA 040)

Die Forschungsarbeiten zu diesem Vorhaben sind eingestellt.

020

3.7. Erarbeitung von Methoden zur Züchtung von F₁-Hybriden mit Resistenz gegen das leek yellow stripe virus (LYSV) bei Winterporree - Principles for breeding F₁ hybrids in leek (*Allium porrum*) with resistance to leek yellow stripe virus (LYSV)

3.7.1. Verhalten aus Samenanlagen regenerierter Porreepflanzen - Behaviour of leek plants regenerated out of ovules

Schum, A.; Hofmann, K.; Mattiesch, L.; Timmann, E. M.

Dihaploide Pflanzen sind für die Entwicklung von Hybridsorten bei Porree von Interesse, da sie den Transfer von cytoplasmatisch bedingter männlicher Sterilität (cms) aus anderen diploiden Arten der Gattung Allium mittels Kreuzungen ermöglichen könnten. Zudem würde durch die Nutzung von Doubled Dihaploids der Aufbau von Inzuchtlinien beschleunigt werden.

1992 aus Samenanlagen von drei Genotypen regenerierte Sprosse wurden in vitro geklont und nach Bewurzelung in die Gewächshauskultur überführt. Bonituren morphologischer Merkmale sowie von Schosserbildung und Blütenfertilität nach Vernalisation in der zweiten Vegetationsperiode wurden durchgeführt. Fünf dihaploide Klone, die auf denselben von der Sorte 'Suprella' abstammenden ingezüchteten Genotyp zurückgehen, wiesen jeweils eine charakteristische Morphologie auf. Damit wurde ihre unterschiedliche genetische Konstitution, die auch in ihrem in vitro-Verhalten und ihrer Sensitivität gegenüber Colchicin zum Ausdruck kam, deutlich. Im Vergleich zu tetraploiden Pflanzen blieben alle dihaploiden im Wachstum zurück. Bei drei der dihaploiden Klone bildete jeweils ein Teil der Pflanzen Blütenstände aus. Ihre Pollenkörner waren im Vergleich zu denen von tetraploiden Pflanzen deutlich in der Größe reduziert. Eine Bewertung der Pollenfertilität war aufgrund extremer Witterungsbedingungen im Sommer 1994 auch bei tetraploiden Kontrollpflanzen problematisch. Bei einem der dihaploiden Genotypen zeigten zeitweise 25% der Pollenkörner eine Färbereaktion mit Karminessigsäure. Nach praktischen Erfahrungen ist eine Pollenvitalität in dieser Höhe für eine Durchführung von Kreuzungen ausreichend. Von 80 als tetraploid eingestuft Klone, die aus 18 Samenanlagen eines anderen Ausgangsgenotyps regeneriert worden waren, wiesen 23 auffällige morphologische Abweichungen auf. Damit bestätigen sich Hinweise aus cytologischen Untersuchun-

gen, daß ein Teil der höherploiden Pflanzen gametophytischen Ursprungs ist und auf spontane Aufregulierungsprozesse zurückgeht. (BAZ-6119)

Das Vorhaben wird bis Ende 1994 an das Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung der BAZ, Quedlinburg, überführt. Die Forschungsarbeiten dazu werden im IZZ, Ahrensburg, zu diesem Zeitpunkt eingestellt.

021

3.7.2. In-vitro-Polyploidisierung von *Allium spec.* - In vitro polyploidization of *Allium spec.*

Stödt, A.; Schum, A.

Der Aufbau von Inzuchtlinien kann durch die Erzeugung von Doubled Dihaploids beim tetraploiden Porree beziehungsweise von Doubled Haploids bei der diploiden Küchenzwiebel beschleunigt werden. Die Gewinnung von tetraploiden Allium cepa-Genotypen mit cms-Plasma ist Voraussetzung für eine generative Integration von cms in Allium porrum.

In-vitro-Einzelsprosse von vier dihaploiden Porreegenotypen wurden auf Nährmedien mit 0, 0.05, 0.1 und 0.15% Colchicin für 5, 10, 15 und 20 d bei 7,5°C im Dauerdunkel inkubiert. Durch die Toxinbehandlung kam es zu Entwicklungsverzögerungen und in Abhängigkeit von der Colchicinkonzentration und der Inkubationszeit zu erhöhten Absterberaten sowie verminderten Regenerations- und Vermehrungsraten. Dabei traten deutliche genotypspezifische Unterschiede auf. Bei hinreichenden Ausbeuten an regenerierten Sprossen, die bei allen Genotypen noch bei einer zehntägigen Behandlung mit Colchicin in Konzentrationen bis zu 0.1% gegeben waren, konnten stets Doubled Dihaploids flowcytometrisch identifiziert werden. Zudem traten auch mixoploide Sprosse (2x/4x- sowie 4x/8x-Chimären) auf.

Für die Polyploidisierung zweier haploider Genotypen von *Allium cepa** wurden Zwiebelbasenhälften auf Nährmedium mit 0.05% Colchicin für 5 und 10d bei 7.5°C im Dauerdunkel inkubiert. Die Colchicinbehandlung wirkte sich ebenso wie beim Porree negativ auf die Regenerationsfähigkeit der Explantate aus. Durchflußcytometrische Ploidiebestimmungen zeigten, daß bereits bei den Kontrollen mixoploide Sprosse auch höheren Ploidieniveaus auftraten. Es muß daher zu spontanen Endopolyploidisierungen gekommen sein. Eine Einschätzung des auf die Colchicinwirkung zurückzuführenden Polyploidisierungserfolges ist demzufolge schwierig. Unter den colchicinierten Sprossen war jedoch bei beiden Genotypen ein vergleichsweise hoher Anteil an Regeneraten mit höherem Ploidieniveau (4x/8x und 8x/16x) zu finden.

Zur Erzeugung von tetraploiden Zwiebeln mit cms-Plasma wurden Samen zweier Hybridsorten nach Oberflächensterilisation mit 0.05 und 0.1% Colchicin für 4 und 8 h behandelt und anschließend unter In-vitro-Bedingungen angezogen. Ebenso wie bei den vegetativ vermehrten, ursprünglich haploiden Zwiebelgenotypen zeigten die flowcytometrischen Ploidiebestimmungen, daß auch bei den unbehandelten Sämlingen Endopolyploidisierungen erfolgt waren. Pflänzchen mit erhöh-

tem Ploidieniveau kamen bei Kontrollen und Colchicinierungsvarianten gleichermaßen vor. Lediglich bei der Sorte 'Yellow Stone' erhöhte sich ihr Anteil nach Behandlung mit 0.1% für 8 h gegenüber der Kontrolle signifikant auf 55%. (BAZ-6119)

In Zusammenarbeit mit: Meister, Keller, Inst. f. Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben
Das Vorhaben wird bis Ende 1994 an das Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung der BAZ, Quedlinburg, überführt. Die Forschungsarbeiten dazu werden im IZZ, Ahrensburg, zu diesem Zeitpunkt eingestellt.

* (dankend erhalten von J. Keller, IPK Gatersleben)

022

3.7.3. Entwicklung von Inzuchtlinien mit erhöhter Resistenz gegen das leek yellow stripe virus (LYSV) bei Porree - Development of inbred lines with increased resistance to leek yellow stripe virus (LYSV) in leek

Schum, A.; Hofmann, K.

Eine Resistenzzüchtung gegen das LYSV ist insbesondere für Winterporreetypen von Bedeutung, da Befall mit diesem Virus neben Ertragseinbußen auch zu einer verminderten Frosttoleranz führt. Daher wird im Zuge der Methodenentwicklung zur Züchtung von F₁-Hybridsorten, die auch die Erzeugung von Inzuchtlinien auf klassischem Weg umfaßt, besonderes Augenmerk auf deren Resistenzverhalten gerichtet.

45 ausgewählte Inzuchtlinien (I₁ bis I₄), die im Spätherbst 1993 an den zwei Standorten Quedlinburg und Ahrensburg keine oder nur vereinzelt Symptome von LYSV-Befall zeigten und auch weitere Qualitätsansprüche erfüllten, wurden serologisch auf latent vorhandene Viren untersucht. Dazu wurden jeweils 15 Pflanzen vom Standort Quedlinburg und zwischen 15 und 60 Pflanzen vom Standort Ahrensburg frostfrei im Gewächshaus überwintert und mit Hilfe eines indirekten ELISA getestet. Das Serum dazu wurde freundlicherweise von Dr. Vetten, BBA Braunschweig, zur Verfügung gestellt. Es zeigte sich, daß keine der Zuchtlinien zu 100% virusfrei war. Der Anteil an Pflanzen mit latentem Befall variierte stark zwischen den verschiedenen Selbstungsnachkommenschaften; er war jedoch mit einer Ausnahme bei den vom Standort Quedlinburg stammenden Linien stets geringer. Drei Inzuchtlinien, die von virusgetesteten Pflanzen mit negativem ELISA-Befund abstammten, fielen dadurch positiv auf, daß der latente Virusbefall bei beiden Standorten übereinstimmend mit 10 bis 20% vergleichsweise gering war. Weitere Selektionen in den Selbstungsnachkommenschaften dieser Zuchtlinien erscheinen vielversprechend und könnten auch Hinweise zur Genetik der Virusresistenz liefern. (BAZ-6119)

In Zusammenarbeit mit: Neumann, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg
Das Vorhaben wird bis Ende 1994 an das Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung der BAZ, Quedlinburg, überführt. Die Forschungsarbeiten dazu werden im IZZ, Ahrensburg, zu diesem Zeitpunkt eingestellt. 023

4. Erstellung von Basismaterial

4.1. Grundlagen der Züchtung neuer Zierpflanzen - Principles of breeding new ornamentals

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

Neuheiten tragen zur Belebung des traditionellen Zierpflanzenspektrums bei. Zur Erweiterung des Anteils insbesondere blaublühender Topfpflanzen wurden Spezies mit auffallender Blütenmorphologie ausgewählt, die sich durch Starkwüchsigkeit auszeichnen. Ziel des Vorhabens ist die Auslese von kleinwüchsigen Formen mit kurzen Internodien und kompaktem Sproßaufbau, die ohne den Einsatz von Wachstumsregulatoren kultiviert werden können (Abb. 1).

Ruellia macrantha (Acanthaceae): Aus Kreuzungsnachkommenschaften ausgelesene Einzelpflanzen wurden in vitro vermehrt und zur Prüfung der Uniformität der Klone bis zur Blüte kultiviert. Auf Grund unerwartet großer Unterschiede in der Pflanzenhöhe wurden cytologische Untersuchungen zur Bestimmung der Chromosomenzahl durchgeführt. Dabei konnte festgestellt werden, daß neben $2n = 2x = 34$ und $2n = 3x = 51$ zahlreiche Pflanzen mit variierenden Chromosomenzahlen vorkommen. Es ist zu vermuten, daß ein Zusammenhang zwischen den morphologischen Abweichungen und den jeweiligen Chromosomenzahlen besteht. Pflanzen, die dem diploiden Niveau entsprechen, wurden daher ausgelesen und in vitro verklont. Die Prüfung der Uniformität erfolgt 1995, ebenso ein Versuchsanbau von zwei Eliteklonen (R4 und S2) unter Praxisbedingungen.

Tibouchina urvilleana (Melastomataceae): Infolge der Sterilität des zur Verfügung stehenden Basismaterials wurden Verfahren zur In-vitro-Mutagenese entwickelt. Bereits 1993 konnte festgestellt werden, daß eine akute

Röntgenbestrahlung mit 25 Gy zu einer Absterberate von 50 % der Explantate (LD_{50}) führte und die Behandlung mit 40 Gy einer LD_{95} entsprach. Die Aufzucht der bestrahlten Regenerate ergab eine unbefriedigende Ausbeute an Formen, die vom Ursprungstyp abwichen, so daß eine Erhöhung der Strahlendosis durch fraktionierte Applikation von 3×15 Gy in Intervallen von jeweils 4 Stunden notwendig erschien. Die Auswertung von 480 Pflanzen dieser Bestrahlungsvariante ergab wiederum nicht zufriedenstellende Resultate. Hieraus ist zu schließen, daß *T. urvilleana* über eine hohe Strahlenresistenz verfügt und eine Ausdehnung der fraktionierten Bestrahlung erforderlich ist, wobei die Wiederholung der Behandlung nach der In-vitro-Subkultivierung mehrfach durchgeführt werden soll. Drei bisher ausgelesene Pflanzen, die in der ersten Vegetationsperiode kürzere Internodien aufwiesen, müssen 1995 nach der In-vitro-Verklonung auf die Stabilität dieses Merkmals geprüft werden. Bei 20 im Jahr 1993 selektierten Pflanzen trat die Schwachwüchsigkeit in den vegetativen Nachkommen nicht mehr auf und war somit modifikativ bedingt.

Clerodendrum ugandense (Verbenaceae): Unter 1600 Sämlingen aus Selbstungsnachkommenschaften befand sich nur eine deutlich schwachwüchsige Pflanze, so daß die Erzeugung weiterer Selbstungsgenerationen notwendig ist. Die Röntgenbestrahlung von 1100 Stecklingen mit 30 Gy ergab trotz deutlicher Primärschäden an den Blättern keine vegetativen Nachkommen mit abweichenden Merkmalen. Mehrfachbestrahlungen sind somit erforderlich, da die geringe genetische Variabilität des Basismaterials auf generativem Wege zur Zeit nicht erweitert werden kann.

Alyogyne huegelii (Malvaceae): Zwei im Jahr 1993 aus 660 Selbstungsnachkommen ausgelesene schwachwüchsige Pflanzen wurden verklont und die Blütenbildung in aufeinanderfolgenden Vermehrungssätzen untersucht. Nach dem Stutzen waren erste Knospen an den Seiten-

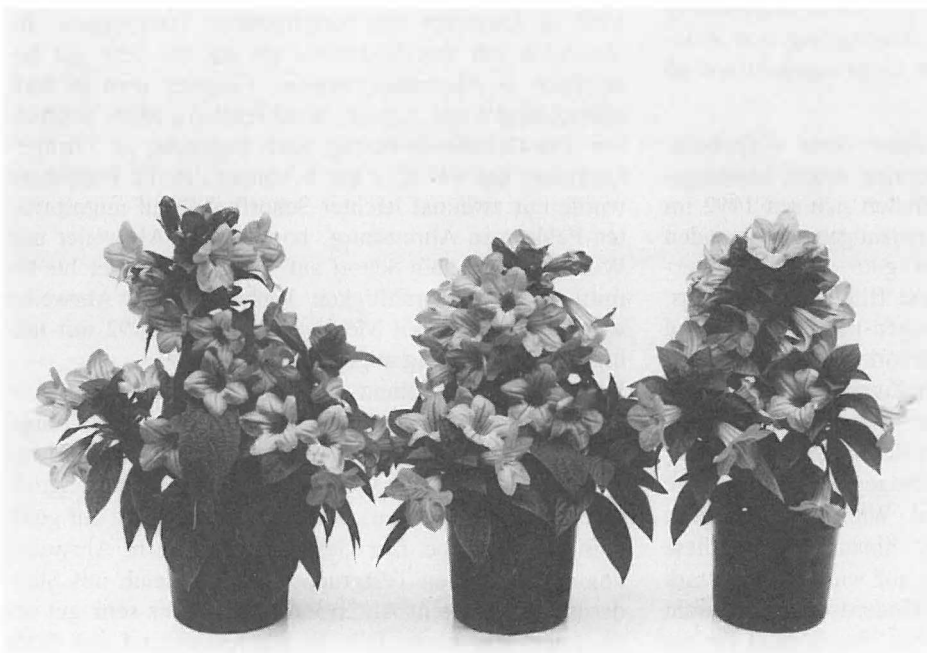


Abb. 1: *Ruellia macrantha*, Eliteklon R4, nach Kultivierung ohne Stauchemittelanwendung

trieben bereits nach 4 Wochen (Gewächshaus-temperatur 22° C) erkennbar. In späten Vermehrungssätzen (Mitte Juni) setzte die Blüte Ende Oktober bei Gewächshaus-Solltemperaturen von 18° C ein. Diese erfolgsversprechenden Ergebnisse weisen darauf hin, daß bei *A. huegelii* die Inzuchtdepression zur gewünschten Veränderung der Morphologie unter Beibehaltung von positiven Blüheigenschaften führen kann.

Solanum rantonnetii (*Solanaceae*): Auf Grund der geringen Fertilität des vorhandenen Basismaterials wurden Stecklinge zur Erzeugung von Mutanten mit Röntgendo-sen von 25 Gy bestrahlt. Aus 1320 Pflanzen konnten 18 ausgelesen werden, die in folgenden Merkmalen verändert waren: Hellaubigkeit, hellere Blütenfarbe, hängende Wuchsform und Epidermisdeformationen. Lediglich eine Pflanze (92/20-1) zeigte deutlich kürzere Triebe und fiel durch Reichblütigkeit auf. Diese Merkmale blieben nach der Verklonung erhalten.

Mit Unterstützung der Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau, Auweiler-Friedsdorf, konnte erstmals Saatgut von *S. rantonnetii* aus dem natürlichen Verbreitungsgebiet in Mittelamerika bezogen werden. Es wird erwartet, daß hierdurch fertile Pflanzen für die Kombinationszüchtung ab 1995 zur Verfügung stehen werden. (BAZ-6107) In Zusammenarbeit mit: Arbeitskreis "Neue Zierpflanzen" der Gartenbauversuchsanstalten

024

4.2. Grundlagen der Züchtung von *Erica gracilis* - Principles of breeding *Erica gracilis*

Preil, W.; Ebbinghaus, R.

Erica gracilis gehört mit einer jährlichen Produktion von über 50 Mio Pflanzen zu den bedeutenden Kulturen des deutschen Erwerbsgartenbaues. Das Sortenangebot ist im Vergleich zu anderen Kulturen gering und wird überwiegend durch 'Glasers Rote' und deren Klonauslesen beherrscht, die auf einen Zufallssämling von 1929 zurückgehen. Eine planmäßige züchterische Bearbeitung von *Erica gracilis* wurde durch Beschaffung von Wildformen aus den südafrikanischen Ursprungsgebieten ab 1988 ermöglicht.

Auslesen aus Kreuzungen von 'Glasers Rote' x 'Globularis' mit südafrikanischen Wildformen sowie Sämlingsklonen aus Wildpopulationen befinden sich seit 1992 im Versuchsanbau. Die aus den Kreuzungen stammenden Klone zeichnen sich durch sehr gute vegetative Vermehrbarkeit, kräftigen Wuchs und Blütenreichtum aus. Unter den klimatischen Bedingungen des Sommers und Herbstes 1994 war die Blütenhaltbarkeit gegenüber den Vergleichssorten teilweise unbefriedigend. Die Verwendbarkeit dieser Auslesen in der gärtnerischen Praxis scheint damit eingeschränkt. Eine Reihe von südafrikanischen Sämlingsklonen verfügt demgegenüber über eine sehr gute Blütenhaltbarkeit und Widerstandsfähigkeit gegenüber Frühfrösten. Darüber hinaus weisen diese Klone andere positive Merkmale auf wie kräftige, stark verholzende Triebe und im Standardsortiment nicht vorhandene Blüten- und Blattfarben. Somit steht für die weitere Kombinationszüchtung wertvolles Ausgangsmaterial zur Verfügung. Neben der Kombination der ge-

nannten Merkmale wird die Bereitstellung von Sämlingspopulationen für Untersuchungen zur Resistenz bzw. Toleranz gegen *Cylindrocladium scoparium*, die Wurzelhalsfäule, im Vordergrund stehen. (BAZ-6106) In Zusammenarbeit mit: Sondergruppe AZERCA des Zentralverbandes Gartenbau (ZVG) e.V.

025

4.3. Züchtung leistungsfähiger, krankheitsresistenter Apfelsorten mit hoher Fruchtqualität - Breeding of high yield and disease resistant apple varieties with high fruit quality

4.3.1. Kombination von Schorf- (*Venturia inaequalis*), Mehltau- (*Podosphaera leucotricha*) und Mehlig Apfellaus- (*Dysaphis plantaginea*)-Resistenz mit Fruchtqualität - Combination of resistance to apple mildew (*Podosphaera leucotricha*), scab (*Venturia inaequalis*) and rosy apple aphid (*Dysaphis plantaginea*) with fruit quality Schmidt, H.; Krüger, J.; Radies, M.

Nur 15 bzw. 14 Jahre nach der Kreuzung haben die Ahrensburger Züchtungsarbeiten beim Apfel zu einem weiteren Erfolg geführt. Nach mehrjährigen Anbauprüfungen an verschiedenen Standorten (Stationen Ahrensburg, Ahrweiler, Weinsberg, Stuttgart-Hohenheim, Bavendorf) wurden drei schorffresistente Klone im Herbst 1994 zum Sortenschutz angemeldet. Im einzelnen sind dies die Klone 80/2-62,80/4-34 und 81/19-35. Ein weiterer Klon, S13-1/30, wurde bereits 1993 zum Sortenschutz angemeldet.

Klon 80/2-62 entstand aus der Kreuzung TSR15T3 x 'Elstar'. Er blüht zeitgleich mit 'Golden Delicious', ist diploid und starkwachsend bei hohen Erträgen. Die Früchte sind mittel- bis großfrüchtig (65 bis 75 mm) und etwas intensiver rot als 'Elstar' auf hellgelbem Grund. Die Berostung ist meist schwach. Der Geschmack wurde 1992 in Ahrweiler von verschiedenen Testgruppen im Vergleich mit Standardsorten als gut bis sehr gut bezeichnet, in Ahrensburg ebenso. Geerntet wird in Süd- deutschland Ende August, in Ahrensburg Mitte September. Die Genußreife beträgt nach Lagerung im Züchterkühlraum bei +4° C 2 bis 3 Monate. In 12 Prüfjahren wurde nur zweimal leichter Schorfbefall auf ungespritzten Feldern in Ahrensburg bonitiert. In Ahrweiler und Weinsberg trat kein Schorf auf. Es wurde nur leichte bis mittlere Mehltauanfälligkeit beobachtet. In Ahrweiler wurde der Befall mit Mehlig Apfellaus 1992 mit mäßig, 1993 mit gering angegeben.

Klon 80/4-34 entstand aus der Kreuzung 'Elstar' x TSR15T3. Der Klon blüht zeitgleich mit 'Cox Orange' und 'Jonagold', ist diploid, sehr starkwachsend und hat mittlere bis gute Erträge. Die Früchte sind mittelgroßfrüchtig (70 bis 80 mm), intensiv leuchtend rot auf goldgelber Grundfarbe. Der Geschmack wurde in Ahrweiler von verschiedenen Testgruppen im Vergleich mit Standardsorten sowie in Ahrensburg als gut bis sehr gut bezeichnet. Die Ernte fällt in Süddeutschland auf Ende August, in Ahrensburg auf Ende September. Die Genußreife beträgt nach Lagerung im Züchterkühlraum bei +4°

C ca. 3 Monate. In 12 Prüffahren wurde auf ungespritzten Feldern in Ahrensburg in 4 Jahren leichter, in Ahrweiler und Weinsberg kein Schorfbefall beobachtet. Der Befall mit Mehltau war in Ahrensburg leicht bis mittel, in Ahrweiler leicht. Der Besatz mit der Mehligen Apfellaus war 1992 und 1993 in Ahrweiler gering.

Klon 81/19-35 entstand aus der Kreuzung 'Prima' x Klon 40 ('Goldparmäne' frei abgeblüht). Er blüht zeitgleich mit 'Jamba' und ist starkwachsend mit guten Erträgen. Die Frucht ist mittelgroß (60 % > 65 mm), intensiv rot gefärbt auf goldgelbem Grund. Die Berostung ist bei diesem Klon mittelstark, vorwiegend in der Stiel- und Kelchhöhle. Der Geschmack wurde in Ahrweiler von verschiedenen Testgruppen im Vergleich mit Standard-sorten sowie in Ahrensburg mit gut und süßlich beurteilt. Die Ernte liegt in Süddeutschland Anfang September, in Ahrensburg Mitte bis Ende September. Die Genußreife beträgt 2 bis 3 Monate nach Lagerung im Züchterkühlraum bei +4° C. In Ahrensburg wurde in 9 Jahren nur einmal leichter, in Ahrweiler und Weinsberg kein Befall mit Schorf bonitiert. Der Klon ist, wie in mehrjährigen Inokulationsreihen nachgewiesen, krebsfest. Die Mehltauanfälligkeit war in Ahrweiler und Ahrensburg leicht, in Weinsberg 1994 mittelstark, der Befall mit Mehliger Apfellaus war 1992 und 1993 in Ahrweiler gering.

Der triploide Klon **S13-1/30** wurde in Ahrensburg selektiert, entstand ursprünglich aus freier Abblüte einer 'Golden Delicious'-Mutante 'Doud's 2-4-4' am MPI Köln-Vogelsang. Er blüht relativ früh, zeitgleich mit 'Ahrina', ist mittelstark wachsend bei regelmäßigen guten bis sehr guten Erträgen. Die Fruchtgröße ist mittel bis groß im Bereich 65 bis 80 mm, hellgelb, gelegentlich bronzefarben an der Sonnenseite. Die Berostung ist meist schwach. Der Geschmack ist süßsauerlich, gut. Erntezeit ist in Süddeutschland Anfang September, in Ahrensburg Mitte bis Ende September. Die Genußreife liegt bei 2 bis 6, im Mittel bei 3 Monaten nach Lagerung im Züchterkühlraum bei +4° C. Der Klon hat in Weinsberg keinen, in Ahrensburg in 5 von 17 Jahren nur leichten Schorf-befall auf ungespritzten Feldern gezeigt. Die Mehltauanfälligkeit ist gering. (BAZ-6110)

Die Weiterführung des gesamten übrigen Apfelmateri-als und dessen Überführung in das Institut für Obst-züchtung der BAZ, Dresden-Pillnitz, erfolgt nach Ab-sprache und in Arbeitsteilung zwischen den beteiligten Instituten und den verantwortlichen Wissenschaftlerin-nen.

026

4.3.2. Züchtung von Apfelsorten mit Resistenz ge-gen den Obstbaumkrebs (*Nectria galligena*) - Breeding apples with resistance to canker (*Nectria galligena*)

Krüger, J.; Gasché, B.; Stielau, E.

Der durch Nectria galligena hervorgerufene Obstbaum-krebs kann an Apfelbäumen großen wirtschaftlichen Schaden verursachen. Eine Resistenzzüchtung gegen diesen Schaderreger war daher in das hiesige Apfelmateri-alsprogramm mit aufgenommen worden.

An Apfelbäumen, die aus Kreuzungen von Sorten und Klonen mit unterschiedlicher Krebsanfälligkeit entstan-den waren, wurden 1994 erneut künstliche Inokulationen mit *Nectria galligena* durchgeführt. Nekrosen und Wu-cherungen sowie Absterben des Triebes nach Infektion mit diesem Pilz treten nicht immer sofort auf, sondern können nach unterschiedlich langer Zeit - bis zu zwei Jahren - vorkommen. Die Bonituren 1994 umfaßten daher auch die Inokulationen der Vorjahre. Es wurden weitgehend die im Jahresbericht 1993 dargestellten Er-gebnisse bestätigt. Eine abschließende Auswertung er-folgt nach Abschluß der Arbeiten im Winter 1994/95. (BAZ-6110)

Danach werden die Forschungsarbeiten an diesem Vor-haben im IZZ, Ahrensburg, eingestellt.

027

4.4. Züchtung von Süßkirschsornten - Breeding of sweet cherry varieties

Schmidt, H.; Radies, M.

Die seit 1986 laufende Süßkirschezüchtung verfolgt die Ziele: Einbringung von Selbstfertilität, schwächerer bis kompakter Wuchs, Verträglichkeit mit den schwachen Wuchs induzierenden Unterlagen, Verbesserung der Fruchtqualität (insbesondere in der 3./4. Kirsch-Ernteweche) und geringe Neigung der Früchte zum Platzen nach Regen zur Reifezeit. In Prüfung stehen aus Kreuzungen 366 Sämlinge auf eigener Wurzel unter-schiedlichen Alters und 1850 Sämlinge aus Mikrovered-lung der Kreuzungsjahre 1992 und 1993. Die ersten Sämlinge mit guter Fruchtqualität wurden für weitere Prüfungen abveredelt.

Die Sämlinge der Kreuzungen 1990 haben zu 92 % ge-blüht und zu 79 % gefruchtet. Die ein Jahr jüngeren Pflanzen haben zu 66 % geblüht und zu 32 % gefruchtet. Von bisher 95 geselbsteten Sämlingen konnten 46 an Hand des Pollenschlauchwachstums als selbstfertil klas-sifiziert werden. Die dunkelfrüchtigen Sorten 'Mermet', 'Stella', 'Sunburst', 'Valeska' und 'Van' sind heterozygot für die Fruchtfarbe. Sie spalten "bunte" Sämlinge heraus. Die bunte Sorte 'Büttner's Rote Knorpel' spaltet nach Kreuzung mit dunklen Partnern 1:1 für rot:bunt. (BAZ-6104)

Die Weiterführung des Süßkirschenzüchtmateri-als und dessen Überführung in das Institut für Obstzüchtung der BAZ, Dresden-Pillnitz, erfolgt nach Absprache und in Arbeitsteilung zwischen den beteiligten Instituten und den verantwortlichen Wissenschaftlerinnen.

028

4.5. Auslese auf geringe Faserigkeit beim Spargel - Selection for low fibrousness in asparagus

Handke, S.; Preil, W.; Schneidereit, M.; Radies, M.

Das in der ehemaligen Bundesforschungsanstalt für Gartenbauliche Pflanzenzüchtung begonnene Langzeit-Projekt wurde nach Auswertung selektierter Klone abge-schlossen. Ziel des Vorhabens war die Auslese auf Fa-serarmut bei Grünspargel.

Selektierte männliche Spargelvarianten (Klonstämme 75/206 und 75/216) wurden in vitro vermehrt, 1991 ins Freiland gepflanzt und 1994 auf ihre Faserigkeit untersucht.

Bei 22 cm langen Stangen unterschieden sich beide Klonstämme durch faserfreie Bereiche von 20,1 bzw. 19,8 cm Länge (= 91 % bzw. 90 % von 22 cm) signifikant ($P = 5\%$) von der ebenfalls in vitro vermehrten Vergleichssorte 'Spaganiva', die eine faserfreie Stangenlänge von 18,5 cm (= 84 % von 22 cm) aufwies. Bei der im Grünspargelanbau üblichen Sortierung von 27 cm betrug der faserfreie Bereich 24,3 bzw. 24,2 cm (= 90 % von 27 cm), während 'Spaganiva' mit einer faserfreien Stangenlänge von 22,5 cm (= 83 %) signifikant mehr Fasern ausbildete.

Damit konnte nachgewiesen werden, daß der bei den Klonstämmen 75/206 und 75/216 bereits früher festgestellte signifikant niedrige Faseranteil auch bei ihren in vitro vermehrten Nachkommen zur Qualitätsverbesserung beiträgt. Beide Klonstämme sind zur Vergabe der Nutzungsrechte an die Praxis vorgesehen. (LAO56)

Die Forschungsarbeiten an diesem Projekt sind eingestellt.

029

Institut für Resistenzforschung

Aschersleben

Das Institut für Resistenzforschung hat die Aufgabe, morphologische, physiologische, biochemische und genetische Ursachen der Resistenz gegen biotische Schadeerreger zu ermitteln.

1. Physiologie und Biochemie der Resistenz

- 1.1. Charakterisierung von PR-Proteinen der Gerste nach Infektion mit *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. - Characterization of PR-proteins from barley infected with *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem.**
Reiss, E.

Die pflanzlichen 'Pathogenese-related'-Proteine werden als potentielle Abwehrverbindungen diskutiert und sind damit auch Gegenstand strategischer Überlegungen in der Resistenzzüchtung. Ihre Natur ist weniger erregerspezifisch, eher wirtsspezifisch bestimmt. Verschiedene PR-Proteine aus Gerstenpflanzen wurden elektrophoretisch, immunologisch und über Isoenzymanalysen näher untersucht.

Nach Infektion mit dem perithotrophen Pilz *Drechslera teres* f. *teres* ließen sich in jungen Primärblättern von Gerstenkeimpflanzen Chitinasen, β -1,3-Glucanasen, Peroxidasen, PR1a- und PR1b-Proteine sowie TL-('Thaumatin-like')-Proteine nachweisen. Dies erfolgte nach isoelektrischer Auftrennung und nativer bzw. denaturierender Porengradienten-PAGE mittels direkter oder Overlaygel-Substratfärbung und/oder mittels Antisera/IgG's. Die Antisera waren gegen isolierte Proteine von mehltauinfizierter Gerste hergestellt worden, deren Aminosäure-Sequenzen zu einem Teil bereits vorliegen. Es wurde festgestellt, daß die durch *D. teres* induzierten PR-Proteine mit denen nach Mehltau- Infektion sowie mit den lediglich durch das Toxin von *D. teres* in den Blättern induzierten Proteinen identisch sind. Darüberhinaus konnte deutlich gemacht werden, daß die meisten PR-Proteine in mehreren Formen auftreten, die sich im Molekulargewicht (MG) und im isoelektrischen Punkt unterscheiden.

So ließen sich nach dem MG Chitinasen unterscheiden bei 26 kDa, um 38 kDa sowie bei etwa 110 kDa. Die Chitinase bei 26 kDa stellt sich in der Silberfärbung und nach Westernblotting als eine Doppelbande dar, deren oberer Teil einem pI-Wert von ca. 10,5 und deren untere Bande einem pI-Wert von ca. 3,5 entspricht. Die höhermolekularen Formen sind nur unter nativen Bedingungen stabil. β -1,3-Glucanasen sind nachweisbar jeweils mit Molekulargewichten von >200 kDa, von 60 bis 65 kDa und von 31 und 29 kDa. Unter denaturierenden Bedingungen ist nur die Glucanase mit 31 kDa und einem pI-Wert von 10,5 erkennbar. Peroxidasen sind in

mehreren Isoformen und bereits konstitutiv (in der gesunden Kontrolle), aber verstärkt nach Infektion vorhanden: nativ im MG-Bereich weit über 200 kDa und im Bereich von 30 bis 35 kDa in mehreren SDS-stabilen Banden. Die pI-Werte für die Peroxidasen lagen ausschließlich im basischen Bereich zwischen 7 und >10,5. Die beiden PR1-Proteine unterscheiden sich nicht im MG, das bei 15 kDa liegt, und nur gering im pI-Wert: 10,5 (a) und 10,7 (b). Die TL-Proteine sind mit 19 kDa und zwei pI-Werten nahe bei 3,5 nachweisbar. (BAZ-2101-2102)

In Zusammenarbeit mit: Bryngelsson, The Swedish University of Agricultural Sciences, Svalöv, Schweden
030

- 1.2. Entwicklung einer Methode zur Frühselektion von *Dactylis*-Zuchtmaterial auf Resistenz gegen *Mastigosporium* spp. - Development of a method for early selection of *Dactylis* breeding material with resistance to *Mastigosporium* spp.**
Kastirr, U.; Ehrig, F.; Schubert, J.

Es sollte eine Selektionsmethode zur Einschätzung der Anfälligkeit des aktuellen Zuchtmaterials gegenüber *Mastigosporium muticum* am Knautgras erarbeitet werden.

Im Rahmen der Erarbeitung einer Selektionsmethode gegen *Mastigosporium* spp. am Knautgras wurden Untersuchungen zum Vorkommen verschiedener Arten und zu deren Charakterisierung durchgeführt und eine Methode zur Frühselektion von *Dactylis* - Zuchtmaterial auf Resistenz gegen *M. muticum* bereitgestellt.

Im Bearbeitungszeitraum wurden 15 Isolate gewonnen, die 4 verschiedenen *Mastigosporium* - Arten (*M. album* Riess, *M. muticum* (Sacc.) Gunnerb., *M. kitzebergense* Schlöss., *M. rubricosum* (Dean. et Barth) Nannf.) zugeordnet werden konnten.

Zur Differenzierung der Arten wurden die Isolate morphologisch, biologisch, biochemisch, serologisch und molekularbiologisch charakterisiert.

Die einzelnen Arten lassen sich nach Vermessung ihrer Konidien sowie licht- und rasterelektronenmikroskopischen Untersuchungen morphologisch, d.h. in der Größe und Form ihrer Konidien und Konidienträger, eindeutig differenzieren. Auch das Wachstum der Myzelkolonien ist unterschiedlich.

Im biologischen Test zeigten die 4 Arten eine spezifische Zuordnung zu bestimmten Wirtspflanzen. So infizierte *M. album* von 10 geprüften Gräserarten nur *Alopecurus pratensis* L. und vereinzelt *Arrhenatherum elatius* (L.) J.et C., *M. muticum* nur *Dactylis glomerata* L. und *D.*

aschersoniana L., *M. kitzebergense* *Dactylis glomerata* L. und *Phleum pratense* L. und *M. rubricosum* nur *Agrostis*-Arten.

Für den serologischen Nachweis von *M. muticum* wurden nach Aufarbeitung eines Myzelmaserates der Reinkultur Kaninchen durch 4 intramuskuläre Injektionen immunisiert. Aus den Antiseren wurden IgG-Fractionen gewonnen und im indirekten ELISA ohne Vorbeschichtung gegen 15 pilzliche Pathogene an Gräsern getestet. Die Untersuchungen zu Kreuzreaktionen erfolgten an den Reinkulturen der Pilze und teilweise an infizierten Blättern.

Die 4 geprüften *Mastigosporium*-Arten konnten mit Hilfe der gewonnenen Seren sehr gut in Reinkultur und infizierten Blättern angesprochen werden. Es traten jedoch auch starke Kreuzreaktionen des *Mastigosporium*-Antiserums mit *Rhynchosporium secalis* (Oud.) J.J.Davis auf. Aus diesem Grund eignet sich der serologische Test nicht für den *Mastigosporium*-Nachweis an mischinfizierten Freilandpflanzen.

Biochemisch wurden die Isolate hinsichtlich ihrer Bildung von extrazellulären, hydrolytischen Enzymen in planta getestet. Hierbei fand eine modifizierte Variante des von WOLF (Univ. Göttingen) entwickelten Enzymtests Anwendung. Wie Abbildung 1 belegt, spielt im Infektionsvorgang des Pilzes die Bildung von Xylanase eine Rolle. Es gibt zwischen einzelnen Isolaten deutliche Unterschiede in der Enzymaktivität, deren Korrelation zur Pathogenität der Isolate noch gesichert werden muß.

Ziel der molekularbiologischen Untersuchungen war eine

sichere Differenzierung von *Mastigosporium*-Isolaten, die sich in Herkunft, Pathogenität und Wirtsspezifität unterschieden. Das aus einer Reihe von Zufallsprimern ($n = 10 - 16$) selektierte Oligonukleotid (GACA)₄ erwies sich für die differenzierende Amplifikation an Gesamt-DNA verschiedener Isolate als gut geeignet. Aus 82 Monokloniallinien eines *M. muticum* - Isolates wurden 9 Linien in ihren Bandenmustern nach PCR verglichen. Die geprüften Einsporlinien wiesen ein einheitliches Amplifikationsmuster auf und konnten auch nach Spaltung mit 6 verschiedenen Restriktionsenzymen (Tetra- und Hexanukleotidpalindrome) nicht differenziert werden. Unterschiedliche *M. muticum*-Isolate hingegen zeigten differente Bandenmuster. Die Klonierung art-spezifischer amplifizierter DNA-Fragmente ermöglichte es, nach deren Sequenzierung spezifische Primer zu synthetisieren, mit deren Hilfe die Differenzierung der Arten nach PCR möglich war.

Für die Frühselektion von Zuchtmaterial auf Resistenz gegen *M. muticum* wurden die im Jahresbericht 1993 beschriebenen Methoden zur Inokulumgewinnung und zur Inokulation von Blattsegmenten und Sämlingen beibehalten. Es erfolgte eine mathematische Überprüfung des notwendigen Stichprobenumfangs für die statistisch zu sichernden Befallsunterschiede nach Einschätzung des prozentualen Blattflächenbefalls. Die Untersuchung zur Variabilität der Befallsstärke erfolgte mittels Varianzanalyse und anschließenden Mittelwertvergleich unter Verwendung der Fläche unter der Befallsverlaufskurve. Der Box & Whisker Plot zeigt eine hohe Varia-

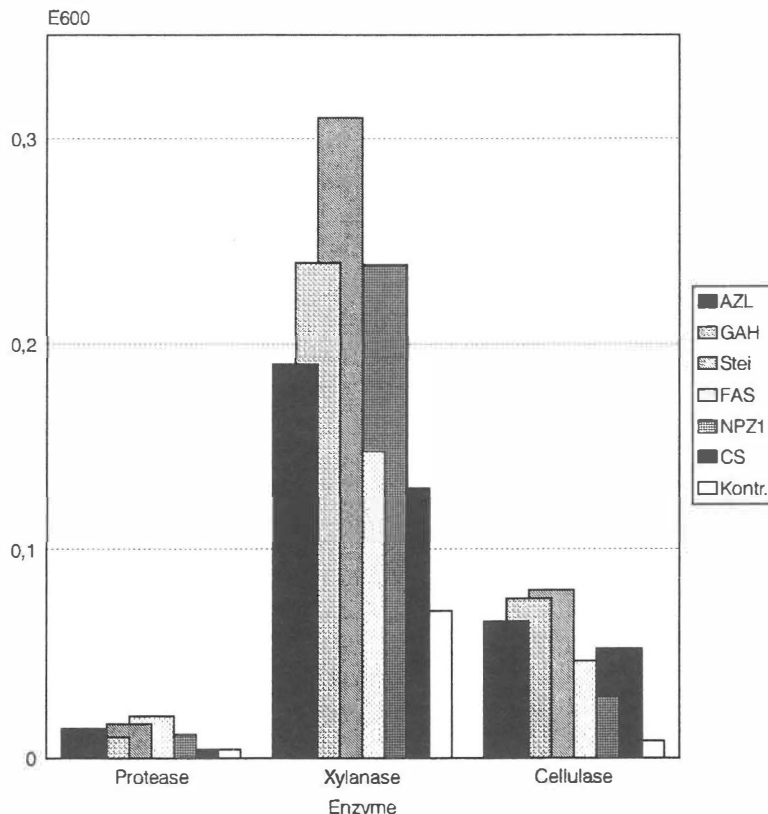


Abb. 1: Enzymaktivität verschiedener *Mastigosporium*-Isolate in planta 4 Wochen p.i.

bilität in der Anfälligkeit verschiedener Sorten und innerhalb einer Sorte, wie es bei Fremdbefruchtern nicht anders zu erwarten ist. Am geprüften Material wurden signifikante Unterschiede hinsichtlich der Befallsstärke deutlich (Abb.2), die die untersuchten Prüfglieder in Anfälligkeitsgruppen trennen.

Die erarbeitete Selektionsmethode wurde mit reproduzierbaren Ergebnissen an 48 Knaulgrassorten und ca. 200 -klonen in Züchtungsbetrieben getestet und zur Einschätzung von Resistenzen gegen *M. muticum* angenommen. (BAZ-2108)

In Zusammenarbeit mit: Schütze, DSV Leutewitz; Prochnow, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

031

Für die spezifische Detektion von *Mastigosporium*-Arten aus Pflanzenmaterial wurden nach folgender Methode die Daten für spezifische Primer gewonnen:

Die DNA der Erreger wurde aus entsprechenden Reinkulturen, die auf flüssigem Malz-Pepton-Medium angezogen worden waren, isoliert. Um den für die PCR erforderlichen Reinheitsgrad des Materials zu gewährleisten, wurden störende Bestandteile der Präparation über eine CTAB-Fällung entfernt. Eine abschließende Reinigung der mit iso-Propanol gefällten DNA erfolgte mit Hilfe eines Glaspulverkonzentrats.

Die Amplifikation an der Gesamt-DNA wurde unter Verwendung verschiedener Zufallsprimer (n=10-16) durchgeführt. Das Oligonukleotid (GACA)₄ erwies sich für eine Differenzierung von Arten als am besten geeignet, da es ein vielbandiges Muster von Fragmenten un-

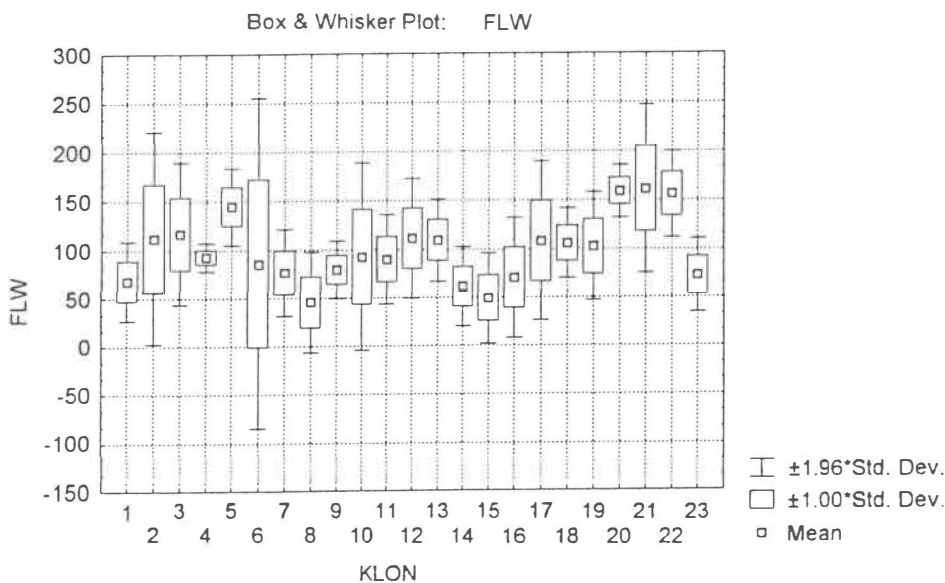


Abb. 2 : Variabilität der *Mastigosporium muticum*-Befallsstärke verschiedener Knaulgrassorten
hoch anfällig - 5, 19 bis 22
wenig anfällig - 1, 8, 14 bis 16, 23

1.3. Nachweis von *Mastigosporium*-Arten in befallenen Pflanzen mittels RAPD-Technik - Detection of *Mastigosporium* species in infected plants by means of RAPD technique Kastirr, U.; Schubert, J.

Im Rahmen der Erarbeitung einer Selektionsmethode zur Resistenzeinschätzung von *Dactylis*-Zuchtmaterial gegen *Mastigosporium*-Befall sollte eine eindeutige Nachweismethode für den Erreger im Blattmaterial entwickelt werden.

Mastigosporium-Arten sind sehr langsam wachsende Pilze, die bei Isolation aus Blattgewebe nur kleine Kolonien bilden und bei Mischinfektionen auf natürlich befallenen Blättern oft durch andere Blattfleckenreger überwachsen werden. Ihr Nachweis in Freilandmaterial mit Hilfe serologischer Methoden kann noch nicht spezifisch geführt werden. Aus diesen Gründen bietet sich ein Nachweis des Erregers an Klonen aus dem Zuchtgarten mit Hilfe der PCR an.

terschiedlicher Größe für die Arten *M. muticum* und *M. kitzebergense* ergab.

Um eine für den Erregernachweis eindeutige Differenzierung zu ermöglichen, wurden artspezifische Fragmente, die für *M. muticum* ca. 300 bp und für *M. kitzebergense* ca. 1600 bp groß waren, aus dem Agarosegel isoliert, kloniert und vollständig oder teilweise sequenziert. Auf der Grundlage der erhaltenen Sequenzdaten war es möglich, spezifische Primerpaare zu synthetisieren. Diese differenzierten beide Arten eindeutig, wenn deren aus Reinkulturen gewonnene DNA eingesetzt wurde.

Um zu überprüfen, ob die Primer auch für eine Differenzierung der Arten in befallenen Blattgeweben eingesetzt werden können, wurde mit dem *M. muticum*-Primerpaar eine Amplifikation an Gesamt-DNA aus mit *Mastigosporium*-Arten befallenen Pflanzen durchgeführt. Wie aus Abbildung 1 ersichtlich wird, amplifiziert das für *M. muticum* spezifische Primerpaar in infizierten Blattproben nur die für diese Pilzart spezifische 298 bp-Bande.

Sie fehlt bei Verwendung von DNA aus gesunden Blättern bzw. bei Infektion mit anderen Pilzarten.

Im Ergebnis dieser Arbeiten wird eingeschätzt, daß es mit Hilfe spezifischer Primer möglich ist, *Mastigosporium*-Befall in infizierten Blättern eindeutig nachzuweisen. Nach Vereinfachung der DNA-Extraktion/Reinigung ließe sich die Methode für Routinetestungen einsetzen. (BAZ-2108)

032

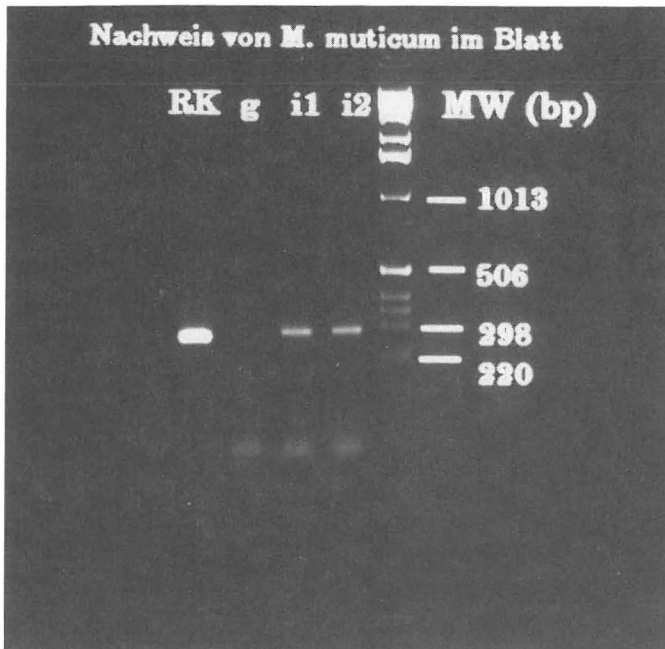


Abb.1: *Mastigosporium muticum* - Nachweis in infizierten Blättern von *Dactylis glomerata* mittels PCR
RK - Reinkultur, g - gesund, i1/i2 - infizierte Blätter

1.4. Untersuchungen zur Resistenz von Gerste gegen *Drechslera teres*: Identifizierung und Charakterisierung von *Drechslera teres*-Isolaten mittels Isoenzymanalyse als Voraussetzung für Resistenzuntersuchungen

- Investigations on the resistance of barley to *Drechslera teres*: Identification and characterization of *Drechslera teres* isolates by means of the analysis of isoenzymes as a supposition to investigate resistance
Nachtigall, M.

Es sollen biochemische und molekularbiologische Verfahren erprobt und etabliert werden, die eine umfassende Charakterisierung der einzelnen Erregerisolate, deren Monokloniallinien sowie eine Differenzierung von

Drechslera teres f. teres und *Drechslera teres f. maculata* gestatten.

Für resistenzanalytische Untersuchungen ist es zwingend erforderlich, daß sowohl das Pathogen als auch das verwendete Pflanzenmaterial umfassend charakterisiert werden können. Der Pilz *Drechslera teres* zeichnet sich durch eine große Variabilität aus, wobei nicht nur zwei Erregerformen, der Netz- und der Spot-Typ zu differenzieren sind, sondern auch einzelne Pathotypen mit unterschiedlicher Virulenz auftreten. Die verschiedenen Isolate des Pilzes sind mit Hilfe morphologischer Merkmale nicht zu unterscheiden.

Im weiteren Verlauf unserer Untersuchungen sollte daher geprüft werden, inwieweit das Proteinmuster, die Produktion extrazellulärer Polysaccharid-abbauender Enzyme sowie die Amplifikation bestimmter Abschnitte der genomischen DNA des Pilzes eine Charakterisierung der einzelnen Erregerisolate gestatten.

Die elektrophoretische Auftrennung der Proteine unter Verwendung nativer Polyacrylamid-Gradienten-Gele (Poro-PAGE) und anschließender Silberfärbung ergab isolatespezifische Banden. Anhand der analysierten Isoformen des Enzyms Esterase konnten bei einem *D. teres*-Isolat des Spot-Types zusätzliche Banden nachgewiesen werden. Eindeutige Aussagen darüber, ob diese Banden auch spezifisch für den genannten Erregerstyp sind, sind erst nach Analyse weiterer Spot-Typ-Isolate möglich.

Die Aktivität extrazellulärer Polysaccharid-abbauender Enzyme im Gerstenblattextrakt wurde nach 14 Tagen mittels Mikrotiterplattenmethode unter Verwendung von farbstoffmarkierten Substraten bestimmt. Untersuchungen zur Wachstumsdynamik der einzelnen *D. teres*-Isolate anhand des Myzeltrockengewichtes zeigten, daß sich zu diesem Zeitpunkt die Isolate in der logarithmischen Wachstumsphase befinden und gleichzeitig ein Maximum in ihrer Enzymaktivität erreichen. Zwischen Myzeltrockengewicht und Enzymaktivität konnte keine Korrelation nachgewiesen werden. Es zeigte sich jedoch, daß sowohl die Xylanase- als auch die Zellulaseaktivität eine eindeutige Zuordnung der Isolate hinsichtlich ihrer Aggressivität ermöglichen. Hinsichtlich der Xylanaseaktivität treten zwischen den einzelnen Monokloniallinien (MKL) des *D. teres*-Isolates Re Am signifikante Differenzen auf (Abb. 1), die sich im Blattsegmenttest auch in einer unterschiedlichen Aggressivität widerspiegeln. Nach einer Clusteranalyse ließen sich die untersuchten Isolate und Monokloniallinien in drei Gruppen einteilen. Die geringste Enzymaktivität zeigten die Isolate *D.t.* 265a; Re 69; Re 100 (Netz-Typ) sowie *D.t.* 230 und *D.t.* 140 (Spot-Typ), während bei der MKL 11.3. und der MKL 13.3. die höchsten Aktivitäten nachgewiesen wurden. Bei den aggressiven Netz-Typ-Isolaten konnten hohe Enzymaktivitäten gemessen werden, während die geprüften Spot-Typen (*D.t.* 140, *D.t.* 85, *D.t.* 230) mit Ausnahme des Isolates *D.t.* 85 eine geringe Xylanase- bzw. Zellulaseaktivität aufweisen, im Blattsegmenttest jedoch Aggressivitätsunterschiede erkennen ließen.

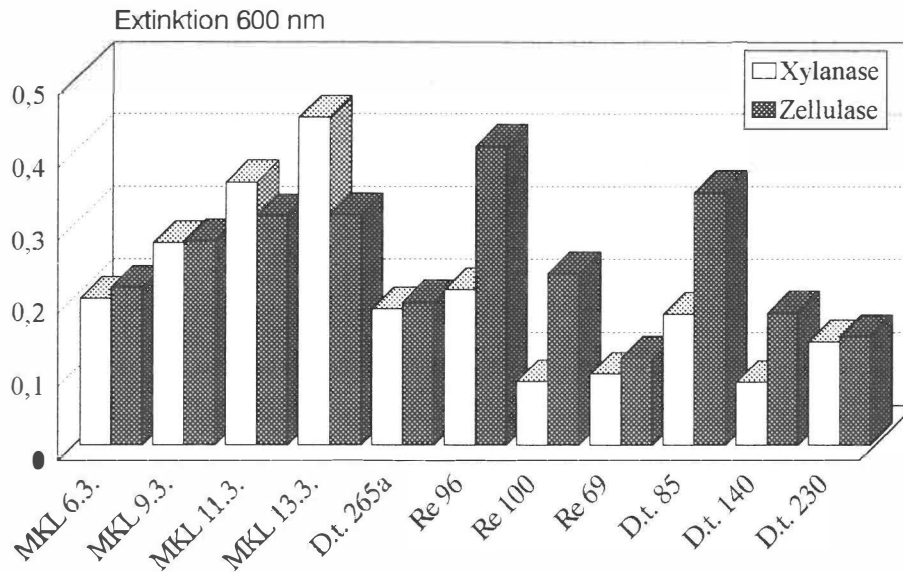


Abb. 1: Enzymaktivität verschiedener *Drechslera teres*-Isolate im Gerstenblattextrakt (Kultivierungsdauer 14 Tage)

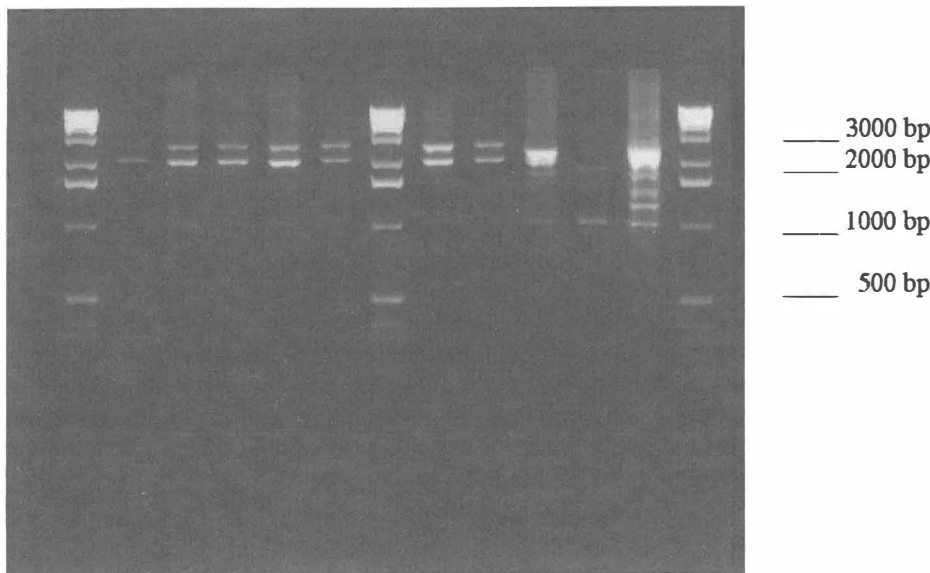


Abb. 2: Charakterisierung verschiedener *Drechslera teres*-Isolate und deren Monokloniallinien mit der PCR-Technik unter Verwendung von $(GATA)_4$ als Primer
 Spur 1, 7, 13: DNA_Marker; Spur 2-5: verschiedene Monokloniallinien des *D. teres*-Isolates *Re Am*; Spur 6, 8, 9: drei Monokloniallinien des Isolates *Re Am* nach einjähriger Kultivierung auf künstlichen Nährmedien; Spur 10: *D.t.* 230; Spur 11: *D.t.* 235; Spur 12: *Re* 100

Als weitere Möglichkeit zur Charakterisierung wurde die PCR-Technik genutzt. Die Gesamt-DNA des Pilzes wurde nach Extraktion und partieller Reinigung mit CTAB unter Verwendung von Isopropanolgefällt. Eine weitere Reinigung der Proben erfolgte über ein Glaspulverpräparat. Zur Amplifizierung der Gesamt-DNA wurden sowohl verschiedene Random-Primer als auch simple repeats (10- und 16-Oligomere) sowie 2 Units Taq- Polymerase verwendet. Die Primerkonzentration betrug jeweils 10 pmol und die Konzentration der Target-DNA lag bei ca. 50 ng in einem Reaktionsansatz von 100 μ l. Im Ergebnis dieser Untersuchungen konnte festgestellt

werden, daß bei den einzelnen *D. teres*-Isolaten spezifische Bandenmuster auftreten, die eine Differenzierung der Isolate gestatten (Abb. 2).

Die Größe der amplifizierten DNA-Fragmente lag bei dem verwendeten $(GATA)_4$ -Primer zwischen 1 und 3 kb. Während für das Isolat *Re Am* zwei stärkere und eine schwache Bande charakteristisch sind, treten gerade in diesem Bereich beim Spot-Typ Isolat *D. t.* 230 zusätzliche Banden auf, die bei den anderen Netz-Typ-Isolaten nicht zu beobachten sind. Demgegenüber ließen sich die untersuchten Monokloniallinien eines Isolates nicht differenzieren.

Auch nach mehreren Nährbodenpassagen über eine Kultivierungsdauer von einem Jahr traten reproduzierbare Bandenmuster auf, die auf eine gewisse genetische Stabilität hinweisen. Abschließend ist anzumerken, daß nur die Anwendung verschiedener Verfahren eine umfassende Charakterisierung von *Drechslera teres* als Voraussetzung für resistenzanalytische Untersuchungen ermöglicht. (BAZ - 2105)

Die Isolate wurden von Frau Dr. Sachs, BBA, Kleinmachnow, übergeben.

In Zusammenarbeit mit: Kopahnke, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben; Wolf, Univ. Göttingen

033

1.5. Untersuchungen zur Resistenz von Gerste gegen *Drechslera teres*: Biologische Prüfung von Monokloniallinien von *Drechslera teres* an ausgewählten Gerstenlinien mit definierter Resistenzreaktion sowie histologische Analyse der Pathogenabwehr - Investigations on the resistance of barley to *Drechslera teres*:

Biological test of monoklonial lines of *Drechslera teres* in selected barley genotypes with known resistance and histological studies of the pathogen defence

Nachtigall, M.

Mit verschiedenen histochemischen Verfahren sollen die pilzliche Entwicklung im Blattgewebe untersucht sowie bestimmte Abwehrmechanismen der Wirtspflanze analysiert werden.

Ausgehend von den im Institut für Epidemiologie und Resistenz durchgeführten Virulenzuntersuchungen wurden geeignete *Drechslera teres*-Isolate und entsprechende Gerstengenotypen für diese Untersuchungen ausgewählt: für die kompatible Reaktion die Genotypen 'Karat' und 'Salome' und das *D. teres*-Isolat Re Am, für die inkompatible Reaktion die Genotypen HOR 10625 und *Avena strigosa* (als bisher nicht beschriebene Wirtspflanze) sowie das *D. teres*-Isolat Re Am.

Zuerst erfolgte eine Einarbeitung in verschiedene histologische Färbetechniken. Dafür wurden die mit Konidien des Erregers inokulierten Blätter in einem Gemisch aus Ethanol/Chloroform/ Trichloressigsäure entfärbt und mit Anilinblau, Lactophenolblau sowie mit Perjodsäure und anschließender Coomassieblau-Behandlung gefärbt. Durch den Einsatz von Phloroglucinol-HCl und Uvitex 2B sollte mit Hilfe der UV-Fluoreszenzmikroskopie eine Markierung bestimmter Zellwandauflagerungen erreicht werden. Dabei konnte festgestellt werden, daß sich die Dicke der Blattpräparate nachteilig auf Darstellung und Beobachtung dieser Strukturen auswirkte. Erste Untersuchungen haben gezeigt, daß die Konidien von *D. teres* unabhängig von der Wirtspflanze keimen, Keimschläuche und Appressorien bilden, ferner der Pilz sowohl durch Stomata in das Blattgewebe eindringt als auch direkt durch Kutikula und Epidermis penetrieren kann.

Im Rahmen dieser resistenzanalytischen Untersuchungen sind weitere methodische Arbeiten erforderlich, um auf

zellulärer Ebene spezifische Wirt-Pathogen-Interaktionen zu erfassen. (BAZ-2103)

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

034

1.6. Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Weizen nach Befall mit *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* - Investigations on resistance of wheat to *Xanthomonas campestris* pv. *translucens*

Nachtigall, M.

Auf der Grundlage einer zu erarbeitenden effektiven Selektionsmethode soll das Resistenzniveau von Zuchtmaterial und der im Anbau befindlichen Weizensorten analysiert werden.

Die bakterielle Streifenkrankheit des Weizens wird durch einen Erregerkomplex hervorgerufen, zu dem neben *Xanthomonas campestris* pv. *translucens* auch *X. campestris* pv. *undulosa* und *X. campestris* pv. *cerealis* gehören. Hinsichtlich des Wirtsspektrums sind bei den einzelnen Pathotypen, die zu der "translucens"-Gruppe gehören, keine exakten Aussagen möglich, da eine eindeutige Zuordnung gegenwärtig große Schwierigkeiten bereitet. Vergleichsweise wurden fünf verschiedene Inokulationsmethoden unter Verwendung unterschiedlicher Bakteriendichten der o. g. Pathogene¹⁾ geprüft. Als Pflanzenmaterial wurden Winterweizensorten aus dem Hadmerslebener Sortiment und sechs mexikanische Brotweizensorten²⁾, die in ihrer Anfälligkeit variieren, verwendet. Jeweils 15 Pflanzen pro Genotyp wurden bei 24 °C, relativer Luftfeuchte von 60 bis 70 % und einer Photoperiode von 12 Stunden Licht und 12 Stunden Dunkelheit inkubiert. Im Ergebnis dieser Untersuchungen konnte festgestellt werden, daß bei einer Erregerkonzentration von 1×10^5 cfu/ml, die mittels Hagborg-Apparatur in das Blattgewebe infiltriert worden war, die für diese Bakteriose typischen wasserdurchtränkten Flecke auf der Blattspreite auftraten. Ferner konnten geringe Unterschiede in der Symptomausprägung bei den verwendeten Pathotypen beobachtet werden. Die Sorte 'Kawkas' reagierte auf eine *X. c.* pv. *translucens*-Infektion deutlich empfindlicher als alle anderen Genotypen. Mit *X. c.* pv. *undulosa* ließen sich dagegen alle geprüften Genotypen infizieren, wobei die vorliegenden Ergebnisse graduelle Unterschiede in der Befallsstärke erkennen lassen (Abb. 1). Nach der Infiltration von Bakteriensuspension in das Getreidekorn waren keine Blattsymptome zu erkennen, vielmehr traten bei den einzelnen Sorten beachtliche Wuchsdepressionen an den Jungpflanzen auf. Eine systemische Ausbreitung der Pathogene in der Pflanze wurde nicht beobachtet. Das Bakterium ließ sich aus symptomtragenden Blättern über XTS-Agar (ohne Gentamycin) und modifiziertes Wilbrinks Medium isolieren. In symptomlosen Blattmaterial konnte weder durch die Anwendung der genannten Selektivsubstrate noch durch serologische Verfahren der Erreger nachgewiesen werden. Die produzierten IgG-Fractionen ließen sich mit alkalischer Phosphatase unter Zugabe von Glutaraldehyd nicht konjugieren und waren nach Lagerung

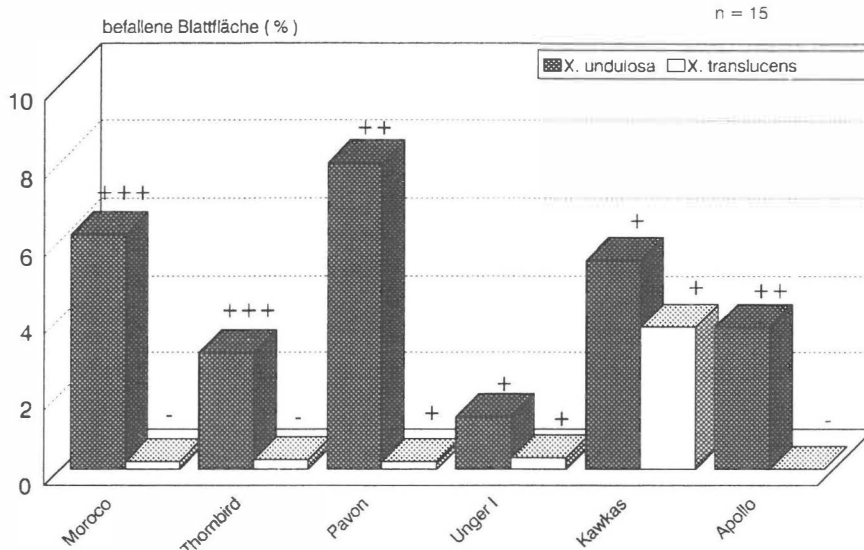


Abb. 1: Bestimmung der Anfälligkeit verschiedener Weizengenotypen nach Infektion mit *X. c. pv. undulosa* und *X. c. pv. translucens* mittels Symptombonitur und indirekten ELISA (+++ stark; ++ mittel; + schwach; - keine Reaktion)

- 1) Die Bakterienisolate wurden uns von Herrn Dr. K. Rudolph, Universität Göttingen, und Herrn Dr. C. Bragard, Université Catholique de Louvain (Belgien), zur Verfügung gestellt.
- 2) Für die Weizensorten danken wir Herrn Dr. E. Duveiller vom CIMMYT Mexiko.

im Kühlschrank sehr instabil. Für die serologische Testung wurde deshalb ein indirekter ELISA ohne Vorbeschichtung gewählt. Untersuchungen zur Spezifität und Sensitivität ausgewählter polyklonaler Antiseren zeigten, daß Kreuzreaktionen mit anderen Xanthomonaden und *Pseudomonas atrofaciens* nicht auftraten und die Nachweisgrenze für die drei Pathovaren bei ca. 1×10^4 cfu/ml lag. Mit den vorliegenden polyklonalen Antiseren ist eine Unterscheidung der an Weizen pathogenen Pathovaren - *X. c. pv. undulosa*, *X. c. pv. translucens* und *X. c. pv. cerealis* - im indirekten ELISA nicht möglich. (BAZ-2104)

035

1.7. Herstellung von Volle-Länge-cDNA-Klonen der vollständigen RNA2 sowie unterschiedlicher natürlicher Deletionsmutanten des Milden Gerstenmosaikvirus (BaMMV) - Construction of full-length-cDNA-clones of the complete and of naturally deleted forms of RNA2 of barley mild mosaic virus (BaMMV)

Timpe, U.*; Kühne, Th.

Im Rahmen der Arbeiten zum Nachweis und zur Charakterisierung der für die Übertragung durch *Polymyxa graminis* verantwortlichen Genomabschnitte des barley mild mosaic virus werden Gesamtlängen-Klone der RNA2 verschiedener Isolate des Virus hergestellt. Ihre replikationsfähigen RNA-Transkripte sollen Hinweise auf die Funktion einzelner viraler Gene liefern.

Das Genom des natürlicherweise vom Pilz *Polymyxa graminis* übertragenen BaMMV besteht aus zwei RNA-Molekülen. Die kürzere RNA2 ist, ohne eine zusätzlich am 3'-Ende vorhandene poly(A)-Sequenz, 3524 Nukleotide lang. Sie beinhaltet ein großes offenes Leseraster,

das für ein Polyprotein von 98 kDa kodiert. Vergleiche mit bekannten Proteinen der nahe verwandten Potyviren führten zu der Annahme, daß der amino-terminale Bereich dieses Polyproteins proteolytisch aktiv ist. Eine mögliche Spaltung des Polyproteins würde zu einem 25 kDa großen Protein (der wahrscheinlichen Proteinase, P1) und einem 73 kDa großen Protein mit unbekannter Funktion (P2) führen. In verschiedenen durch mechanische Inokulation in Gerste vermehrten BaMMV-Isolaten konnten im Genomabschnitt, der für das 73-kDa-Protein kodiert, unterschiedlich große Deletionen festgestellt werden. Von der RNA2 einiger dieser Isolate wurden Gesamtlängen-cDNA-Klone hergestellt. Die Replikationsfähigkeit von RNA-Transkripten eines dieser Klone konnte in BaMMV-infizierten Gerstenpflanzen nachgewiesen werden. Zusammen mit Pilzübertragungsversuchen und gezielter Mutagenese dieser Gesamtlängen-Klone soll die Funktion des entsprechenden Gens aufgeklärt werden. (BAZ-2117)

*Gefördert von der DFG

036

1.8. Herstellung von Expressionsklonen zur Gewinnung von Antiseren gegen Nichtstrukturproteine des BaMMV - Construction of expression clones for the production of antisera against non-structural proteins of BaMMV

Timpe, U.*; Kühne, Th.

Mit Hilfe von Antiseren gegen bestimmte, in Bakterien exprimierte Proteine soll die Beteiligung viraler Proteine an cytologischen Veränderungen in BaMMV-infizierten Gerstenpflanzen gezeigt werden.

BaMMV-infizierte Gerstenzellen zeigen neben den charakteristischen Einschlußkörpern kristallähnliche Membranstrukturen, an deren Bildung möglicherweise die beiden auf der RNA2 kodierten Proteine beteiligt sind. Diese kristallähnlichen Membranstrukturen konnten in einigen Pflanzen, die mit BaMMV-Isolaten mit verkürzter RNA2 infiziert waren, nicht nachgewiesen werden. Näheres soll mit Hilfe immunoelektronenmikroskopischer Methoden untersucht werden. Die dafür benötigten Antisera sollen gegen Proteine hergestellt werden, die in Bakterien produziert wurden. Die verwendeten Plasmide wurden derart konstruiert, daß das gewünschte Protein aus den Bakterienzellen ausgeschleust wird und durch eine einfache Affinitätschromatographie gereinigt werden kann. Ferner wurde die Erkennungssequenz für eine Proteinase eingefügt, die es erlaubt, das gewünschte Protein mit der exakten viralen Aminosäuresequenz abzuspalten. Erste Versuche mit diesem Expressions- und Proteinreinigungssystem haben gute Ergebnisse gezeigt, so daß demnächst erste Immunisierungen mit dem 25-kDa-Protein (P1) durchgeführt werden können. (BAZ-2117)

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

* Gefördert von der DFG

037

1.9. Klonierung von Gesamt-DNA aus *Polymyxa graminis* - Cloning of DNA of *Polymyxa graminis* Kühne, Th.; Kastirr, U.

Abschnitte der DNA sollen kloniert werden, um die Voraussetzungen für den Nachweis des Pilzes in infizierten Pflanzenwurzeln mittels Sondentest und PCR unter Verwendung spezifischer Primer zu schaffen.

Der obligate bodenbürtige Pilz *Polymyxa graminis* Ledingham ist der natürliche Überträger der Gelbmosaik-Viren der Gerste sowie weiterer getreidepathogener Viren. Er befällt ausschließlich die Wurzeln seiner Wirtspflanzen und ist in ihnen nur mikroskopisch nachweisbar. Um die Diagnose zukünftig zu erleichtern und die Ausbreitung des Pilzes über seine Zoosporen in der Pflanzenwurzel besser verfolgen zu können, sollen Teile der Pilz-DNA kloniert werden. Diese können entweder direkt als Sonden für Hybridisierungsexperimente eingesetzt werden oder nach partieller Sequenzierung Informationen für die Synthese spezifischer Primer liefern, mit denen ein PCR-Nachweis pilzlicher Strukturen im Pflanzengewebe möglich wird.

Die Isolierung der zu klonierenden DNA erfolgte aus Zoosporen durch Aufschluß mit einem Lysepuffer, Phenol/Chloroform-Extraktion, RNase-Behandlung und PEG-Fällung. Die Zoosporen waren durch Inkubation *Polymyxa*-infizierter Gerstenpflanzen in Hougland'scher Lösung gewonnen worden. Die isolierte Gesamt-DNA wurde mit PstI gespalten und in das linearisierte und dephosphorylierte Plasmid pBSC II SK+ ligiert. Nach Transformation von *Escherichia coli* (Stamm JM 101) wurden 12 Klone mit Inserts zwischen 0,5 und 6,0 kbp erhalten. Ihre vergleichende Hybridisierung im Southern-

Blot mit Gesamt-DNA aus Gerstenblättern, Gesamt-DNA aus Zoosporen von *P. graminis* sowie verschiedenen Kontroll-DNA's bestätigte, daß es sich in allen Fällen um pilzspezifische DNA-Fragmente handelt. Allerdings enthielt keiner der nach der ersten Transformation gewonnenen Klone eine repetitive Sequenz. Damit sind sie für die Routinediagnose des Pilzes mittels Sondentest nicht geeignet. Ein Klon wurde inzwischen in beiden Richtungen sequenziert, so daß nunmehr mit dem PCR-Nachweis unter Verwendung spezifischer Primer begonnen werden kann.

038

2. Elektronenmikroskopie

2.1. Morphologische Untersuchungen des Infektionsverlaufes im Pathosystem *Podospheera leucotricha*-Apfel an Pflanzen mit unterschiedlichem Resistenzgrad - Morphological investigations of the infection process in the pathosystem *Podospheera leucotricha* - apple in plants with different levels of resistance

Ehrig, F.; Fischer, Ch.; Kriehoff, O.

Es soll geklärt werden, ob die Dicken von Kutikula und Epidermis einen Einfluß auf das Resistenzverhalten haben und damit als morphologische Resistenzmarker dienen können.

Zum Infektionsbeginn muß der Pilz die Barriere 'Kutikula-Epidermis' überwinden. Bei den Mehltaupilzen konnte für einige Pflanzenarten eine positive Korrelation zwischen Kutikuladicke und Resistenzausbildung festgestellt werden (Erdbeere, Wein). Wir ermittelten deshalb rastelelektronenmikroskopisch sowohl Kutikula- als auch Epidermisdicke von Blättern verschiedener Apfelsorten und -zuchtlinien sowie von Wildformen mit unterschiedlichem Resistenzgrad ('Alkmene', 'James Grieve', 'Dülmener Rosenapfel', 'Idared', 'Jonagold', 'Juno', *Malus robusta*, *Malus zumi*, Pi-AM-17-60, Pi-AM-17-43, Pi-AM-25-17, Pi-AM-25-93). Untersucht wurden jeweils junge Blätter (das letzte Blatt der Triebspitze nach voller Entfaltung) und ältere Blätter (das jeweils sechste Blatt des Triebes) von Freilandpflanzen. Die Messungen erfolgten nach Kritischer-Punkt-Trocknung des Materials an insgesamt 12 Meßpunkten pro Blattquerschnitt.

Die ermittelten Werte für die Kutikuladicke schwankten bei den jungen Blättern zwischen 0,58 µm und 0,84 µm (Mittelwert 0,71 µm), bei den älteren Blättern zwischen 1,69 µm und 2,11 µm (Mittelwert 1,86 µm). Bei der Bestimmung der Epidermisdicke wurden Werte zwischen 7,12 µm und 13,28 µm (Mittelwert 9,45 µm) bei jungen Blättern sowie 12,00 µm und 24,66 µm (Mittelwert 16,54 µm) bei älteren Blättern gemessen.

Obwohl innerhalb des Untersuchungsmaterials sowohl bei der Epidermisdicke als auch bei der Dicke der Kutikula beträchtliche Unterschiede beobachtet wurden, konnte in keinem Fall eine Korrelation zum Resistenzverhalten gefunden werden.

Entsprechende Untersuchungen erfolgten auch an In-vitro-Pflanzen ('Pinova', 'Rewena', 'Golden Delicious', 'James Grieve', 'Gibbs Golden Gage', 'Jonagold', 'McIn-

tosh', 'Remo', *Malus robusta*, *Malus zumi*, *Malus sargentii*, *Malus hupehensis*). Dabei erfolgten die Messungen am jeweils jüngsten Blatt und am vierten Blatt des Sprosses. Die Meßwerte für die Epidermisdicke lagen zwischen 2,11 µm und 2,41 µm (Mittelwert 2,20 µm) bei jungen Blättern bzw. 3,41 µm und 4,40 µm (Mittelwert 3,55 µm) bei älteren Blättern. Eine Kutikula mit rasterelektronenmikroskopisch meßbarer Dicke war bei den In-vitro-Pflanzen nicht ausgebildet. Korrelationen zwischen Epidermisdicke und dem Resistenzverhalten wurden auch hier nicht gefunden. Die Untersuchungen zeigen, daß durch die Messung der Epidermisdicke das Resistenzverhalten der Sorten bzw. Zuchtlinien nicht vorausgesagt werden kann. Kutikula und Epidermis haben beim Apfelmehltau offenbar keinen Einfluß auf den Infektionsprozeß. Die Tatsache, daß unter In-vitro-Bedingungen offenbar keine Kutikula ausgebildet wird, das untersuchte Material aber beträchtliche Resistenzunterschiede aufwies, spricht gegen eine Bedeutung der Kutikuladicke für das Resistenzverhalten, wie sie beim Mehltau in anderen Pflanzen gefunden wurde. (BAZ-2110)

039

2.2. Untersuchungen zur Eignung verschiedener Einbettungsmittel für die immunzytochemische Ultradünnschnitttechnik - Investigations on the suitability of different embedding media for the immunocytochemical thin-sectioning technique

Ehrig, F.

Es soll geklärt werden, ob die Verwendung hydrophober Kunstharze, die einen guten Strukturerehalt des Gewebes ermöglichen, für immunzytochemische Untersuchungen möglich ist.

Bei immunzytochemischen Untersuchungen werden heute bevorzugt hydrophile Kunstharze verwendet, während klassische Einbettungsmittel wie z.B. Epon 812 kaum eingesetzt werden. Die Verwendung klassischer hydrophober Einbettungsmittel ermöglicht zwar einen wesentlich besseren Strukturerehalt des Gewebes, führt aber nach verbreiteter Meinung zu einem beträchtlichen Antigenverlust. Zu diesem Nachteil der neuen Einbettungsmittel kommen außerdem Probleme bei der Handhabung durch verschiedene toxische Eigenschaften.

Für die Fixierung des Materials werden bei immunzytochemischen Untersuchungen bevorzugt Aldehyde (Formaldehyd, Glutaraldehyd) verwendet, während der Einsatz von Osmiumtetroxid vermieden wird, um einen weiteren Antigenverlust zu verhindern. Das führt jedoch zu einer weiteren Verschlechterung der Strukturerehaltung.

Da für Aussagen über die Lokalisation von Antigenen in der Zelle eine gute Strukturerehaltung von entscheidender Bedeutung sein kann, führten wir Untersuchungen zur Anwendbarkeit klassischer Einbettungsmittel unter Berücksichtigung verschiedener Fixierungsmethoden durch. Als Untersuchungsobjekte dienten die Pathosysteme PVY/Kartoffel, BrMV/Gerste, TMV/Tabak und *Clavibacter michiganensis*/Tomate. Verglichen wurden die

Kunstharze Epon 812, Lowicryl sowie LR Gold nach Fixierung mit Formaldehyd, Glutaraldehyd oder Glutaraldehyd + Osmiumtetroxid. Die Ergebnisse zeigen, daß beim BrMV, beim TMV sowie bei *C. michiganensis* nach Formaldehydfixierung kein Einfluß des Einbettungsmittels auf die serologische Nachweisbarkeit der Antigene zu beobachten ist.

Im System PVY/ Kartoffel trat nach Anwendung von Epon 812 ein Antigenverlust gegenüber Lowicryl und LR Gold von ca. 50 % auf. Die Fixierung des Materials mit Osmiumtetroxid führte bei allen Objekten sowie allen Einbettungsmitteln zu einem deutlichen Absinken der serologischen Nachweisbarkeit der Antigene. Bei den untersuchten Systemen hat die Fixierungsmethode offenbar einen größeren Einfluß auf den Erhalt der Antigene als das verwendete Einbettungsmittel. Bei Verwendung von EPON 812 waren aber die Zellstrukturen wesentlich besser erhalten als bei Lowicryl und bei LR Gold.

Die Eignung eines Einbettungsmittels oder eines Fixierungsmittels wird wesentlich von den Antigeneigenschaften des Untersuchungsobjektes bestimmt und ist demnach objektabhängig. Bei der Wahl eines Einbettungsmittels für immunzytochemische Untersuchungen sollte deshalb geprüft werden, ob beim jeweiligen Objekt die Verwendung eines gut strukturerehaltenden Kunstharzes möglich ist. (BAZ-2111)

040

3. Biotechnologie

3.1. Agrobacterium-vermittelte Doppeltransformation von Kartoffelpflanzen - Agrobacterium mediated double transformation of potato plants

Barchend, G.; Schubert, J.

Kartoffelgenotypen wurden mit Hilfe von Agrobacterium tumefaciens mit zwei unterschiedlichen Konstrukten, eins mit dem NPT-II-Gen, das andere mit dem PVY-cp- und GUS-i-Gen, transformiert. Es wurden Regenerate erhalten, die beide Genkassetten enthalten.

Um transformierte von nichttransformierten Pflanzen unterscheiden zu können, werden Selektionsmarker, in der Regel Gene für Antibiotikaresistenzen, wie z.B. das NPT-II-Gen, eingesetzt. Da diese Resistenzgene für das eigentliche Ziel unserer Arbeiten, die Schaffung einer Virushüllprotein(cp)-vermittelten Virusresistenz, nicht erforderlich sind, sollte überprüft werden, ob sich das in unseren Arbeiten als Selektionsmarker verwendete NPT-II-Gen auf einem anderen binären Plasmid als das PVY-cp- und das GUS-i-Gen einsetzen läßt und man trotzdem kanamycinresistente Pflanzen mit GUS-Aktivität erhält. Die GUS-positiven Pflanzen wären dann in einer weiteren Etappe auf Virusresistenz zu testen. Das nicht erforderliche Antibiotikaresistenzgen könnte bei sich anschließenden Kreuzungen ausgekreuzt werden, da sich die Integrationsorte für beide Gene mit hoher Wahrscheinlichkeit auf verschiedenen Chromosomen befinden.

Tabelle: Transformation von dihaploiden Kartoffellinien (DHL) und einer Sorte mit verschiedenen Konstrukten, einzeln und in Kombination

Plasmid	pBIN 19	cp-GUS	cp-GUS+pBIN 19	Koübertragungsrate NPT-II/GUS-i, [%]
Sorte/Linie	Regenerations- effizienz ⁺	Anzahl abgenom. Regenerate, davon GUS-positiv	Anzahl erhaltener Regenerate, davon GUS-positiv	
DHL A	0,09	218/0	31/ 2	6
DHL B	0,68	229/0	79/ 9	11
DHL C	0,83	383/0	205/24	12
'Kamyk'	0,54	239/0	139/ 8	6

⁺ - Anzahl kanamycinresistenter Regenerate je aufgelegtem Internodialesegment

Für die Versuche wurde auf der Basis des Plasmids pBIN 19 ein Konstrukt erstellt, welches, jeweils unter Kontrolle des 35-S-Promotors, eine Kasette mit dem PVY-cp-Gen sowie dem GUS-i-Gen (cp-GUS-Plasmid) enthält. Dieses Plasmid sowie das pBIN19, ein binäres *Agrobacterium*-Plasmid mit dem NPT-II-Gen unter Kontrolle des NOS-Promotors, wurden separat über Elektroporation in den *Agrobacterium*-Stamm GV 3101 eingeschleust. Ihre Stabilität in den Klonen ließ sich mittels PCR bestätigen. Für die Kokultivierung von Internodialesegmenten der Kartoffelsorte 'Kamyk' und von drei züchterisch interessanten dihaploiden Linien (DHL) verwendeten wir beide Klone, gemischt im Verhältnis 1:1 bzw. einzeln. Die Regeneration der Explantate erfolgte bei Verwendung des cp-GUS-Plasmids auf kanamycinfreiem, bei Verwendung von pBIN 19 bzw. der Mischung beider Klone auf kanamycinhaltigem Medium. Für die entsprechenden Regenerate erfolgte eine Testung auf GUS-Expression. Die Ergebnisse sind in der Tabelle dargestellt. Die verwendeten Genotypen unterschieden sich erheblich hinsichtlich der Regenerationseffizienz unter selektiven Bedingungen. Dabei konnten mit der DHL C die höchsten Ausbeuten an kanamycinresistenten Pflanzen erhalten werden. Diese Linie sowie die DHL B wiesen auch unter den mit der Klommischung transformierten Genotypen den höchsten Anteil an kanamycinresistenten, sich bewurzelnden GUS-positiven Pflanzen auf. Die Koübertragungsrate für beide Gene lag bei 11 bis 12 %, während sie bei den beiden anderen Genotypen nur 6 % betrug. Keines der nur mit dem cp-GUS-Plasmid transformierten 1069 Regenerate wies eine GUS-Aktivität auf.

In Zusammenarbeit mit: Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz 041

3.2. Prüfung transgener Kartoffelpflanzen auf Expression übertragener Gene und Resistenz gegen das potato potyvirus Y - Testing of transgenic potato plants for expression of transferred genes

and resistance to potato potyvirus Y

Barchend, G.; Schubert, J.

Kartoffelsorten wurden mit dem Hüllproteingen (cp-Gen) des PVY und dem GUS-Gen transformiert. Ausgewählte, GUS-positive Klone wurden mit Isolaten des PVY inokuliert und ihr Virusgehalt getestet. Es ergaben sich Unterschiede im Befallsgrad von nichttransformierten und transformierten Pflanzen.

Internodialesegmente der Sorten 'Desiree', 'Kamyk' und 'Xenia' wurden mit dem *Agrobacterium*-Stamm GV 2260 kokultiviert. Dieser war mit einem Konstrukt, das auf dem Plasmid pBIN 19 basiert und Kassetten mit dem cp-Gen des PVY, dem GUS- und dem NPT-II-Gen enthielt, transformiert worden.

Die Selektion der Regeneratpflanzen erfolgte auf kanamycinhaltigem Medium. Die GUS-Aktivität wurde im Homogenat von Stengelsegmenten überprüft. Bei positiv reagierenden Pflanzen konnte mit spezifischen Primern das cp-Gen des PVY mittels PCR-Technik nachgewiesen werden. Nichttransformierte Kontrollpflanzen ergaben stets ein negatives Signal. Die so überprüften Regeneratpflanzen wurden im Gewächshaus in Erdkultur überführt.

Unter kontrollierten Bedingungen (20 bis 22 °C) erfolgte die mechanische Inokulation mit drei Isolaten des PVY. Das PVY^N ist ein starke Nekrosen induzierendes Isolat, während PVY D884 und PVY CH605 auf den inokulierten Blättern mildere, aber gut sichtbare Symptome hervorrufen. Je Klon und PVY-Isolat wurden 10 Pflanzen getestet. Nach 3 Wochen erfolgte mittels ELISA der erste serologische Test der inokulierten Blätter. Ein weiterer, nach 6 Wochen durchgeführter Test diente der Bestimmung des Virusgehaltes in den Folgeblättern.

Bisher wurden 7 Klone von 'Desiree', 34 Klone von 'Kamyk' und 15 Klone von 'Xenia' geprüft. Es ließen sich Unterschiede im Befallsgrad zwischen den nichttransformierten und den transformierten Varianten beobachten. Aussichtsreiche Klone werden gegenwärtig einer zweiten Resistenzprüfung unterzogen. Zusätzlich soll ihr

Resistenzverhalten nach Übertragung des PVY durch seinen natürlichen Vektor, *Myzus persicae*, untersucht werden. (BAZ-2115)

042

3.3. Gewinnung eines Antiserums für das garlic common latent carlavirus auf der Basis seines rekombinanten viralen Hüllproteins - Production of an antiserum for the garlic common latent carlavirus on the basis of the recombinant viral coat protein

Schubert, J.; Rabenstein, F.

Mit Hilfe des rekombinanten viralen Hüllproteingens wird das Hüllprotein in Escherichia coli gewonnen und für die Antiserumgewinnung eingesetzt.

Porre wird, wie alle *Allium*-Arten, von einer Vielzahl von Viren befallen. Da für diese Viren keine geeigneten Differentialwirte bekannt sind, ist es schwierig, sie voneinander zu trennen und folglich bestehen Probleme, geeignete, spezifisch reagierende Antiseren gegen sie zu erhalten. Ein Weg, das Problem zu lösen, besteht im Einsatz der rekombinanten Virushüllproteine für die Antiserumgewinnung.

Wie bereits im vorjährigen Bericht dargestellt, wurde die RNA eines Virus aus Freilandmaterial von Porree kloniert. Die Nukleinsäurestruktur des 3'-terminalen Bereichs der RNA des Virus wurde im Verlauf der Arbeiten endgültig aufgeklärt. Anhand der Sequenzdaten ließen sich Rückschlüsse auf die Genomstruktur des betreffenden Virus ziehen. Sie ähnelte der eines Carlavirus. Das vermutete Hüllproteing (cp-Gen) des Virus, dessen Lage sich aus den Strukturvergleichen ableiten ließ, wurde in einen Expressionsvektor kloniert und in *Escherichia coli* zur Expression gebracht. Bei der Testung des exprimierten Proteins im western blot mit verschiedenen Antiseren gegen Carla- und Potyviren ergab sich eine eindeutige positive Reaktion mit einem polyklonalen Serum gegen das garlic common latent carlavirus (GCLV). Da auch das Molekulargewicht des GCLV-cp mit dem aus der Nukleinsequenz für das cp abgeleiteten übereinstimmt (35,5 kD), kann man davon ausgehen, daß die RNA des GCLV kloniert wurde.

Das rekombinante Protein wurde über Affinitätschromatographie gereinigt und zur Immunisierung von Kaninchen eingesetzt. Eines der drei erhaltenen Antiseren dekorierte nach ISEM-Präparation die Partikeln des GCLV sowie herkömmlicher Antiseren. Es wies das Virus auch eindeutig im western blot nach. Für den Einsatz im direkten ELISA war es jedoch nicht geeignet. Weitere Versuche für die Gewinnung eines ELISA-fähigen Antiserums werden durchgeführt.

In Zusammenarbeit mit: Vetten, BBA, Braunschweig
Gefördert mit Sachmitteln des MWF Sachsen-Anhalt

043

3.4. Gewinnung und Erprobung eines auf der Basis des rekombinanten Hüllproteins gegen das leek yellow stripe potyvirus (LYSV) erzeugten Antiserums - Production and testing of an antiserum obtained on the basis of the recombinant coat protein of leek yellow stripe potyvirus

Schubert, J.; Rabenstein, F.

Nach der Klonierung und Strukturaufklärung der für das Hüllprotein des LYSV kodierenden RNA konnte das entsprechende Gen in Escherichia coli exprimiert und zur Antiserumgewinnung eingesetzt werden. Das gewonnene Antiserum ist ELISA-fähig, kann in der Routinetestung eingesetzt werden.

Aus einer cDNA-Klonbank von Viren aus Porree-Freilandmaterial konnten mit Hilfe einer markierten cDNA des LYSV mehrere Klone des Virus gefischt werden. Bei der Sequenzierung der Klone ließ sich ein für Potyviren typisches offenes Leseraster identifizieren. Ungewöhnlich ist der sehr lange, nicht kodierende 3'-terminale Bereich der RNA, der eine Länge von fast 600 nt aufweist. Die cDNA, die vermutlich für das Hüllproteing (cp-Gen) des Virus kodiert, wurde in einen Expressionsvektor kloniert und das Gen in *Escherichia coli* zur Expression gebracht. Das exprimierte Protein reagierte im western blot mit einem gruppenspezifischen Antiserum sowie einem polyklonalen Antiserum gegen das LYSV. Das über Affinitätschromatographie gereinigte rekombinante cp kam für die Immunisierung (intramuskulär) von Kaninchen zum Einsatz. Das so erhaltene Antiserum ist geeignet, das Virus in Pflanzenmaterial mittels ELISA und im western blot nachzuweisen. Es reagiert spezifisch mit dem Virus und zeigt nur geringe Kreuzreaktionen mit anderen Potyviren bzw. keine mit gesundem Pflanzenmaterial. Das Serum wird gegenwärtig zur Virusresistenztestung von *Allium*-Material eingesetzt.

In Zusammenarbeit mit: Leistner, BAZ, Inst. für Pathogendiagnostik, Aschersleben; Krämer, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg; Hanelt, Genbank Gatersleben
Gefördert mit Sachmitteln des MWF Sachsen-Anhalt

044

3.5. Klonierung und Sequenzierung des 3'-terminalen Bereichs der RNA des ryegrass mosaic potyvirus (RgMV) - Cloning and sequencing of the 3'-terminal part of the RNA of ryegrass mosaic potyvirus (RgMV)

Schubert, J.; Rabenstein, F.

Der 3'-terminale Bereich der RNA des RgMV wurde kloniert und sequenziert.

Die RNA eines dänischen Isolates des RgMV wurde aus einem gereinigten Viruspräparat gewonnen. Über Initiation mit einem oligo-dT-Primer konnte mittels AMV-Revertase eine cDNA synthetisiert werden. Diese ließ sich erfolgreich in die Plasmide pUC 18 bzw. pBluescript SK II+ klonieren. Nach Hybridisierung mit einer radioaktiven cDNA des Virus wurden verschiedene positiv reagierende Klone isoliert. Sie hybridisierten im northern blot mit der homologen Virus-RNA, so daß man davon ausgehen kann, daß die RNA des gewünschten Virus kloniert worden ist.

Zwei der Klone, der größte mit einem Insert von ca. 1600 bp, wurden für die Sequenzierung ausgewählt. Die Sequenzierung erfolgte in beiden Richtungen an doppelsträngiger DNA mittels 'Sequenase' oder über PCR unter Verwendung spezifischer Primer bzw. nach Reklonierung entsprechender Inserts. Der größere der beiden Klone enthielt das fast komplette Hüllproteingen (cp-Gen). Die abgeleitete Aminosäuresequenz des cp weist, wie erwartet, starke Homologien mit der anderer Potyviren, insbesondere aus dem Genus *Potyvirus*, auf.

Gegenwärtig werden weitere Klone sequenziert, um die fehlenden Bereiche des cp, ca. 50 nt, zu erfassen, aber auch, um die Struktur des Polymerasegens und ggf. weiterer Gene aufklären zu können, die dann die Grundlage für phylogenetische Vergleiche sind.

Das klonierte cp-Gen bzw. Teile davon sollen in einem nächsten Schritt in Weidelgras übertragen werden, um die Möglichkeiten einer gentechnischen Verbesserung der Resistenz gegen das RgMV zu prüfen. Dafür werden entsprechende Gentransferkonstrukte erstellt. (BAZ-2118)

In Zusammenarbeit mit: Posselt, Univ. Stuttgart-Hohenheim

045

Institut für Pathogendiagnostik

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.

1. Allgemeine und Molekulare Diagnostik

1.1. Entwicklung von Nachweis- und Differenzierungsmethoden für das Rye grass mosaic virus in Futtergräsern - Development of methods for detection and differentiation of ryegrass mosaic virus in forage grasses

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

Entwicklung von Testsystemen für die Virusdiagnose in Futtergraszuchtlinien, Charakterisierung von verschiedenen virulenten Virusisolaten, Ermittlung von Resistenzressourcen

Die Arbeiten zur Differenzierung und Charakterisierung von 10 Isolaten des Ryegrass mosaic virus (RgMV) wurden fortgesetzt. Gegen drei Isolate liegen jetzt polyklonale Antisera vor, die noch weiter zu charakterisieren sind. Die Antigene zu ihrer Gewinnung wurden aus Hafer (*Avena sativa*) gereinigt.

Charakteristisch für diese Antisera ist, daß sie im Western blot starke Reaktionen mit verschiedenen Abbaustufen des RgMV zeigten, besonders wenn Rohsäfte infizierter Haferpflanzen getestet wurden.

Eine für die Vermehrung besser als Hafer geeignete Wirtspflanze ist *Lolium temulentum*. Es wurden Herkünfte gefunden, die im Gegensatz zu *Lolium multiflorum* bei wiederholter Prüfung frei von Cryptic-Viren waren, in denen das RgMV aber hohe Konzentrationen erreichte. Die 1993 begonnene Anfälligkeitsprüfung verschiedener Haferarten und -sorten wurde mit weiteren RgMV-Isolaten fortgeführt. Das geprüfte Sortiment verhielt sich in verschiedenen Versuchen gegenüber allen Isolaten sehr ähnlich. Es konnten drei Anfälligkeitsgruppen innerhalb des Hafersortiments mit 70 bis 100 %, 40 bis 60 % und 10 bis 25 % Infektionserfolg ermittelt werden. Dabei ergaben sich reproduzierbare Virulenzunterschiede zwischen den Isolaten. Als z.T. problematisch erwies sich der Nachweis des RgMV in infizierten, deutliche Symptome zeigenden Haferarten. So versagten der Western blot und der DAS-ELISA, während die gleichen Proben im indirekten ELISA und im Tissue Print Immunoassay (TPI) deutlich positiv reagierten. Als Ursache hierfür könnte u.a. der mehrfach von uns nachgewiesene hohe Anteil degradiertes Viruspartikeln in diesen Pflanzen in Betracht kommen. Der TPI wurde auch mit Erfolg beim Schnelldiagnose des RgMV im *Lolium*-Sortiment eines Zuchtgartens eingesetzt. Zwischen Pflanzen des ersten Aufwuchses und mehrmals geschnittenen Pflanzen ergaben sich keine gesicherten Befallsunterschiede.

Deutlich höher war aber der Anteil mit RgMV infizierter Pflanzen bei den tetraploiden Zuchtnummern.

Ein weiterer Schwerpunkt war die serologische Differenzierung und Charakterisierung des RgMV und die Klärung seiner Stellung innerhalb der Rymovirusgruppe der *Potyviridae* mit Hilfe von polyklonalen Antisera gegen weitere Mitglieder dieser Virusgruppe sowie mit monoklonalen Antikörpern. Die dabei gefundenen Ergebnisse erhärteten unsere früheren Vermutungen, daß das RgMV eine Stellung zwischen Rymoviren und aphidenübertragbaren Potyviren einnimmt. (BAZ-2205)

In Zusammenarbeit mit: Huth, Lesemann, Vetten, BBA, Braunschweig

046

1.2. Synthese rekombinanter Virusproteine vom leek yellow stripe virus (LYSV) für die Gewinnung spezifischer Antisera - Synthesis of recombinant virus proteins of leek yellow stripe virus (LYSV) for the production of specific antibodies

Leistner, H.-U.

Gentechnische Gewinnung von Hüllproteinfragmenten des LYSV, Herstellung eines spezifischen Antiserums zum Virusnachweis

Ziel der Arbeiten ist die Herstellung eines spezifischen Antiserums zum Nachweis des LYSV mittels gentechnischer Gewinnung von Hüllproteinfragmenten des Virus. Voraussetzung hierfür ist, daß geeignete Klone von Teilabschnitten des Virusgenoms zur Verfügung stehen. Zur Gewinnung des Ausgangsmaterials wurden Porreepflanzen der Sorte 'Carentan' mit einem LYSV-Isolat aus dem Institut für Zierpflanzenzüchtung, Ahrensburg, der BAZ (von Frau Dr. Schum) inokuliert (Druckluftinfiltration mit Blatthomogenat von LYSV-infizierten Pflanzen). Nach ca. 4 bis 6 Wochen bildeten sich an den Pflanzen die ersten Krankheitssymptome (Gelbstreifigkeit) heraus. Mit Hilfe der Immunelektronenmikroskopie (Dekorationstechnik) konnten die nachgewiesenen flexiblen gestreckten Partikeln dem LYSV zugeordnet werden. Die Reinigung des Virus erfolgte durch Dichtegradientenultrazentrifugation. Nach Isolierung der Virus-RNA wurde an dieser eine cDNA nach oligo-dT-Priming synthetisiert und in den Plasmiden pUC 18 oder blue script II SK(+) kloniert. Hierbei wurden insgesamt 741 Klone durch Elektrophorese und Hybridisierungstests selektiert und charakterisiert. Die gewonnenen Genomfragmente (Inserts) vom LYSV wiesen folgende prozentuale Längenverteilung auf (741 Klone = 100%):

< 1 000 nt	20,8%
< 2 000 nt	43,8%
< 3 000 nt	24,0%
< 4 000 nt	7,3%
< 5 000 nt	3,1%
< 6 000 nt	1,0%

Drei Klone mit der Insertgröße von 4150, 4500 bzw. 5400 nt wurden für die weitere Charakterisierung ausgewählt. Nach vollständiger Sequenzierung ist eine Überexpression des klonierten Genomabschnittes in *Escherichia coli* vorgesehen, um so seine serologische Identität bestimmen zu können. (BAZ - 2203)

In Zusammenarbeit mit: Schubert, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben

047

1.3. Nachweis von Potyviren mit serologischen und molekularbiologischen Methoden in *Brassica*-Arten - Detection of potyviruses by serological and molecular biological methods in *Brassica* species

Leistner, H.-U.; Proll, E.

Entwicklung eines empfindlichen Schnelltests für die Frühdiagnose und -selektion in In-vitro-Systemen (somatische Hybriden), Regeneratpflanzen sowie zum Screening von Basismaterial für den Zuchtprozess

Das turnip mosaic potyvirus (Kohlschwarzringfleckenvirus, TuMV) kann bei verschiedenen Kohlgemüsearten erhebliche Ertragsausfälle (z.B. bei Weißkohl bis zu 30%) und Qualitätseinbußen verursachen. Für die Erstellung von TuMV-resistentem Basismaterial ist es erforderlich, in die Evaluierung ein möglichst breites Spektrum an Virusisolaten unterschiedlicher Virulenz einzubeziehen. Wir haben damit begonnen, 9 TuMV-Isolate aus Deutschland sowie je ein Isolat aus den Niederlanden und Ungarn hinsichtlich ihrer Wirtsreaktionen und der serologischen Nachweisbarkeit zu vergleichen. Die Isolate stammen aus folgenden Wirtspflanzen: Blumenkohl (1), Chinakohl (1), Knoblauchrauke (1), Kohlrabi (1), Kopfkohl (2), Raps (3), Rübsen (1) und Salat (1). Die Isolate wurden auf der anfälligen Chinakohlsorte 'Asko' erhalten und vermehrt. Zur Differenzierung der Isolate nach ihrer Virulenz dienten die relative Viruskonzentration (DAS-ELISA) sowie die Symptomausprägung bei Chinakohl und Weißkohl. Die Isolate aus Kopfkohl und Raps erwiesen sich als besonders virulent, die Isolate aus Blumenkohl, Chinakohl und Kohlrabi nahmen eine Mittelstellung ein, während die Isolate aus Rübsen und Salat als schwach bezüglich der Symptome und des Virustiters eingestuft werden konnten. Während bei der Mehrzahl der Isolate kein Unterschied in der Virulenz auf Chinakohl und Weißkohl festzustellen war, erwies sich ein Isolat aus Knoblauchrauke auf Chinakohl als extrem stark und auf Weißkohl als besonders schwach virulent. Alle Isolate konnten mit verschiedenen polyklonalen TuMV-Antisera und einem monoklonalen Antikörper (mAk P3-3H8, Vetten, BBA, Braunschweig) im DAS-ELISA, im DTBA, im Western blot und immunoelektronenmikroskopisch (Dekorationstest) nachgewiesen werden. Das Isolat aus Rübsen wick im Western blot von

allen anderen Isolaten ab: die Molekülmasse seiner Hüllproteinuntereinheit war - unabhängig von der Wirtspflanze, auf der das Isolat vermehrt wurde - deutlich geringer als die der übrigen Isolate. Ein erstes Ziel der molekularbiologischen Untersuchungen ist die Klonierung von Genomfragmenten des TuMV sowie deren Selektion hinsichtlich ihrer Eignung als Sonden zum Virusnachweis. Hierfür wurde das Virus zunächst durch Dichtegradientenultrazentrifugation gereinigt. Zur Isolierung der Virus-RNA erfolgte eine Virusspaltung mit Proteinase K, Extraktion der RNA in Phenol/Chloroform/Isoamylalkohol und Fällung in Alkohol. Für die Synthese der cDNA aus der Virus-RNA durch oligo-dT-Priming wurde das cDNA-Synthese-Kit der Fa. Boehringer, Mannheim, eingesetzt. Anschließend wurde die cDNA in pUC 18 kloniert. Die hierbei erhaltenen Klone wurden mittels Elektrophorese und Hybridisierungstests charakterisiert. (BAZ - 2204)

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

048

1.4. Erarbeitung von Methoden zur Erfassung des latenten Befalls von Kartoffeln mit *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica* - Development of methods for the detection of the 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

An Hand verschiedener biochemischer und pathologischer Merkmale konnten von 45 bisher nicht sicher identifizierten pektinolytisch aktiven Vertretern der Spezies *Erwinia carotovora* den Unterarten

E. carotovora subsp. *atroseptica* 5 und

E. carotovora subsp. *carotovora* 17

zugeordnet werden. 23 *E. carotovora*-Isolate zeigten Merkmale, die eine sichere Klassifizierung bisher nicht zuließen. Um den Schwarzbeinigkeitserreger *E. carotovora* subsp. *atroseptica* in latent befallenen Kartoffeln nachweisen zu können, wurden im Berichtsjahr folgende zwei Methodenkomplexe entwickelt und ersten vergleichenden Prüfungen unterzogen:

- Nachweis des Erregers im DAS-ELISA (nach Anreicherung über Nährmedienzusatz bzw. Schüttelkultur)
- Einschaltung definierter Streßfaktoren für den Wirt zur Bakterien-Mobilisierung im pflanzlichen Gewebe bis zum sichtbaren Fäuleausbruch.

Zwecks Wertung der Prüfmethode war es erforderlich, in mehreren Gewächshausanzuchten und in einem umfangreichen Freilandversuch mit abgestufter Pflanzgut-Inokulation verschieden stark latent verseuchte Nachkommen zu erzeugen und zu prüfen. Um für Zuchtmaterial bereits im Stufenaufbau Aussagen machen zu können, wurden parallel zu den produzierten Kartoffeln 112 Genotypen aus Groß Lüsewitz in die Tests mit einbezogen. Zur Bakterienanreicherung im Antigen eigneten

sich drei unterschiedlich zusammengesetzte Nährmedien, die nach 24stündiger Inkubation eine ca. 10fache Erhöhung der Nachweisgrenze ergaben. Dabei war eine Schüttel-Inkubation direkt im ELISA-Testschritt günstiger als eine dem Test vorgeschaltete Antigenanreicherung. Eine mehrstündige Schüttel-Inkubation des Antigens ohne Zusatz eines Anreicherungssubstrates ist in der Durchführung zwar weniger aufwendig, bringt jedoch nicht die Steigerung der Sensitivität, wie sie nach Zugabe eines Nährmediums erreichbar ist. Unter den geprüften Streßfaktoren zur Fäuleprovokation führte insbesondere eine Verletzung der Lentizellen mittels Nadelstichen und anschließender Feuchte-Inkubation zu reproduzierbaren Aussagen über die Lentizellenbelastung mit *E. carotovora* subsp. *atroseptica*-Keimen. Zum Nachweis des Bakteriums im Gewebe des Knolleninnern lassen sich gleichfalls durch Kombination von Schnittverletzungen und Inkubation unter feuchter Atmosphäre reproduzierbare Aussagen über Naßfäulebelastung machen. In Einzelfällen wurden Zellsäfte vergleichend mit der PCR-Technik geprüft. Es ist vorgesehen, die ausgewählten Prüfverfahren im kommenden Jahr zu standardisieren, um die Testbedingungen besser definieren zu können. (BAZ-2206)

In Zusammenarbeit mit: Niepold, BBA, Inst. f. Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Braunschweig; Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landw. Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz

049

1.5. Entwicklung von Verfahren zum Nachweis von *Erwinia chrysanthemi* - Development of methods for the 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 Zierpflanzenanbau und insbesondere im Ausgangsmaterial

Der Virulenzvergleich mit verschiedenen Herkünften von *Erwinia chrysanthemi* (Stämme aus mehreren Kultursammlungen) wurde fortgesetzt. In Gewächshausversuchen verursachten einige dieser Isolate bei Inokulation von Kartoffeltrieben eine typische Stengelmarknekrose. Auch unter Freilandbedingungen (abgesicherte Kastenanlage) riefen verschiedene *E. chrysanthemi*-Isolate an Kartoffelpflanzen deutliche Stengelfäulesymptome hervor, die sich nicht von denen der klassischen Schwarzbeinigkeit (Erreger: *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*) unterscheiden ließen. Die stärkste Krankheitsentwicklung trat bei Inokulation mit den Isolaten 179 und 551 ein, obwohl die Symptome 1994 nicht so ausgeprägt waren wie im feuchten Jahr 1993. Bei einigen Sorten kam es nach Pflanzkartoffelinokulation auch zur Entstehung von Fehlstellen im Bestand. Im Anbauvergleich erwiesen sich unter vier geprüften Sorten 'Koretta' und 'Liu' als besonders anfällig, während bei der Sorte 'Karatop' der Anteil der Pflanzen mit sichtbar kranken Trieben sehr gering blieb. Verschiedene *E. chrysanthemi*-Stämme waren auch für Saintpaulien hochvirulent., z. B. die

Isolate 179, PD 551 und PD 1680. Obgleich Wurzelinfektionen für Naßfäuleerreger der Gattung *Erwinia* ungewöhnlich sind, waren einige Stämme in der Lage, diese Wirtspflanze über das Wurzelsystem zu besiedeln und Krankheitssymptome auszulösen, sofern die Wurzeln zuvor verletzt worden waren. Zum Nachweis von *E. chrysanthemi* liegen inzwischen vier Kaninchen- und ein Ziegenantiserum vor, die im ELISA einsetzbar sind. Das Ziegenserum (Nr. Zi-93) besitzt eine hohe Spezifität für *E. chrysanthemi* und zeigt keinerlei Kreuzreaktionen mit anderen Fäulebakterien (z.B. *E. carotovora* subsp. *atroseptica*, *E. carotovora* subsp. *carotovora*, *Pseudomonas solanacearum* und *Clavibacter michiganensis* subsp. *sepedonicus*). Die geprüften acht Isolate erwiesen sich als gleich gut nachweisbar. Diese fünf polyklonalen Antiseren eignen sich ebenfalls sehr gut zum Nachweis von *E. chrysanthemi* im Immunfluoreszenztest (IF-Test). Auch bei diesem Verfahren traten keine Kreuzreaktionen mit anderen bakteriellen Naßfäuleerregern auf. Bei Untersuchung von mehreren Kartoffel- und Zierpflanzenproben aus Zuchtgärten und verschiedenen Gartenbaufirmen Nord- und Südwestdeutschlands konnten bisher über 60 pektinolytisch aktive Vertreter der Gattung *Erwinia* isoliert werden, die aber noch näher bestimmt werden müssen. (BAZ-2207)

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

050

1.6. Charakterisierung und Differenzierung von *Drechslera teres*-Isolaten mit molekularbiologischen Methoden - Characterization and differentiation of *Drechslera teres* isolates by molecular biological methods

Krämer, I.

Beitrag zur Analyse der Resistenzgrundlagen von Gerste gegenüber Drechslera teres

Der spezifische und sichere Nachweis des Erregers der Netzfleckenkrankheit der Gerste - *Drechslera teres* (Sacc.) Shoemaker - ist nicht nur für epidemiologische Untersuchungen von Bedeutung, sondern auch eine wichtige Voraussetzung für die Beurteilung von Zuchtmaterial bei der Auffindung von Resistenzquellen. Oft sind morphologische Kriterien nicht ausreichend, um den Pilz eindeutig identifizieren zu können. Die Morphologie des Erregers kann in Abhängigkeit von seiner regionalen Herkunft unterschiedlich sein oder dem Einfluß von Umweltfaktoren unterliegen, so daß beispielsweise eine Differenzierung zwischen *D. teres* und einem anderen Blattfleckenreger der Gerste - *Drechslera graminea* - nicht möglich ist. Ähnlich verhält es sich bei der Feststellung der Krankheitsursache anhand des Symptombildes. Die an der Gerste durch die Spotform von *D. teres* induzierten Symptome können denen, die durch *Drechslera japonica* hervorgerufenen werden, sehr ähneln. Aber auch die beiden Formen von *D. teres*, die Netzform und die Spotform, sind nicht immer eindeutig identifizierbar, da die Ausprägung der unterschiedlichen

Symptome sortenabhängig ist. Unter Berücksichtigung dieser Tatsachen wurden die 1993 begonnenen molekularbiologischen Untersuchungen mit einem erweiterten Isolatespektrum von *D. teres* fortgeführt, um auf der DNS-Ebene einen spezifischen Nachweis zu entwickeln. In die Analysen einbezogen waren sowohl Isolate der beiden verschiedenen Symptomtypen als auch Isolate unterschiedlicher Aggressivität und regionaler Herkunft. Hierbei wurde die RAPD-PCR eingesetzt, da diese molekularbiologische Technik wertvolle Marker für eine Isolatecharakterisierung und -differenzierung liefern kann. Bisher konnten 20 Zufallsprimer (10er Nukleotidsequenzen) geprüft werden. Anhand der resultierenden Amplifikationsmuster wurde nach spezifischen Markern für die *D. teres*-Isolate gesucht. Es konnte ein Primer gefunden werden, der es ermöglichte, die beiden Erregerformen - Netz- und Spottyp - aufgrund der erhaltenen DNS-Fragmente zu unterscheiden. Von den 10 geprüften Isolaten wurden 5 als Netzform und 4 als Spotform charakterisiert. Die PCR-Analysen zeigten des Weiteren, daß ein bisher als *D. teres* (Netzform) identifiziertes Isolat nicht dieser Spezies zugeordnet werden kann. In Zusammenarbeit mit einer Arbeitsgruppe am VIZR, St. Petersburg, wurde eine spezielle RAPD-Technik erprobt, die auf dem Einsatz sogenannter "universeller" Primer beruht und daher die Bezeichnung UP-PCR erhielt. Die universellen Primer, die für Individuen einer bestimmten biologischen Art sehr ähnliche oder identische Amplifikationsmuster erzeugen, heißen "konservierte" Primer. Andere universelle Primer wiederum ergeben für Individuen innerhalb einer Art sehr heterogene PCR-Bandenmuster (z.B. Unterscheidung von Serotypen); sie werden als "variable" Primer bezeichnet. Ein hoher Reinheitsgrad der genomischen DNS, die als Ausgangsmaterial für das RAPD-Verfahren dient, ist für diese Methode nicht erforderlich. Es können sogenannte "grobe" Pilzmyzelysate unmittelbar in der PCR eingesetzt werden. Die erhaltenen Ergebnisse zeigten eine völlige Übereinstimmung mit den bisherigen Befunden. Es war auch mit diesem Verfahren eine Zuordnung der *D. teres*-Isolate zur Netz- bzw. Spotform möglich. (BAZ-2201)

In Zusammenarbeit mit: Kopahnke, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Reiss, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben; Bulat und Mironenko, VIZR, St. Petersburg, Rußland

051

2. Immundiagnostik

1. vertikal
HJ

2.1. Einsatz des Enzym-amplifizierten ELISA zum Nachweis von Pflanzenviren in Zuchtmaterial von Kulturpflanzen (Raps, Zuckerrüben, Getreide und Kartoffeln), deren Blattlausvektoren (Aphiden) sowie natürlich infizierten Wirtspflanzen (Unkräuter) - Application of enzyme-amplified ELISA for the detection of plant viruses in breeding material of cultivated plants (oilseed rape, sugar beets, cereals, 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. Hochempfindliche Nachweismethoden für Luteo-, Poty- und Closteroviren in natürlichen Wirtspflanzen und Blattlausvektoren zur Verbesserung der Aussagen zur Virusverbreitung und Vorhersage von Virusepidemie

Neben den bereits vorhandenen monoklonalen Antikörpern (mAk) gegen Luteoviren (potato leafroll virus, PLRV, beet western yellows virus, BWYV) und beet yellows closterovirus (BYV) wurden weitere mAk gegen potato virus Y (PVY, Isolat To₁) hergestellt. Es konnten zwei mAk selektiert werden, die jeweils im Plate Trapped Antigen (PTA)-ELISA (mAk 2A4) bzw. im Triple Antibody Sandwich (TAS)-ELISA (mAk 7C5) mit allen 17 geprüften PVY-Isolaten reagierten. Beide mAk zeigten in diesen ELISA-Varianten keine Kreuzreaktionen mit anderen Mitgliedern der *Potyviridae*. Zwei mAk gegen ryegrass mosaic virus (RMV) (mAk 4G12 und 4E6) konnten mit alkalischer Phosphatase markiert und im DAS-ELISA eingesetzt werden. Der Vergleich von p-Nitrophenylphosphat (pNPP) und Enzym-Amplifikation (Amp-ELISA) ergab keine wesentliche Steigerung der Testempfindlichkeit, während mittels Chemolumineszenz-Technik (Messung mit Luminoscan, 10 min. CSPD, 5 sec. Integralmessung) ein 10fach empfindlichere Nachweisgrenze mit beiden mAk erreicht werden konnte. Mit Fusionsexperimenten zur Herstellung neuer mAk gegen beet mild yellowing virus (BMV, Isolat 2-ITB, Colmar) wurde begonnen. Es wurden mittels TAS-ELISA unter Verwendung von virushaltigen Pflanzensäften bzw. mit dem DOT-ELISA unter Verwendung von gereinigten Präparaten des BMV, PLRV und barley yellow dwarf (BYDV) als Antigene eine Anzahl positiver Primärzellklone selektiert, die in weiteren Tests auf ihre Fähigkeit zur Differenzierung von BMV und BWYV geprüft werden müssen. Ein bereits vorhandener mAk (G4C10) gegen BWYV kann zum spezifischen Nachweis des BWYV in Rapsproben eingesetzt werden, jedoch lassen sich damit nicht alle Isolate des BWYV erfassen. Dieser mAk konnte auch im Amp-ELISA zum Virusnachweis in Blattläusen eingesetzt werden. (BAZ-2209)

In Zusammenarbeit mit: Graichen, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Herrbach, Olivier, I.N.R.A., Colmar, Frankreich

052

2.2. Entwicklung immundiagnostischer Methoden unter Verwendung von polyklonalen Antisera und monoklonalen Antikörpern für den Nachweis von *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* und pv. *begoniae* in Zierpflanzen - Development of immunodiagnostic methods using polyclonal antisera and monoclonal antibodies for the detection of *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* and pv. *begoniae* in ornamentals
Rabenstein, F.; Zielke, R.; Proll, E.

Entwicklung eines empfindlichen und praktikablen Verfahrens zum Erregernachweis in Pelargonien und Begonien, polyklonale Antisera, monoklonale Antikörper

Weitere polyklonale Antiseren gegen *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* und *X. c.* pv. *begoniae* wurden hergestellt und in verschiedenen ELISA-Verfahren, im Immunfluoreszenztest (IF-Test), im Agglutinationstest sowie im Western blot geprüft. Im Gegensatz zu einem bereits vorhandenen monoklonalen Antikörper (mAk 5F8) gegen *X. c.* pv. *pelargonii* zeigten alle polyklonalen Antiseren Kreuzreaktionen mit anderen Xanthomonaden und z. T. auch mit Bakterien außerhalb der Gattung *Xanthomonas*. Im Western blot konnte gezeigt werden, daß mAk 5F8 vermutlich mit hochmolekularen Lipopolysacchariden reagiert, die spezifisch für *X. c.* pv. *pelargonii* sind. Die Kreuzreaktivität der polyklonalen Antiseren beruht dagegen auf der Reaktion mit einem Proteinanteil von niedrigerem Molekulargewicht. Im DAS-ELISA zeigte mAk 5F8 keine Reaktion mit gereinigten Lipopolysacchariden anderer Pathovarietäten von *X. campestris*. Die Immunelektronenmikroskopie mit Goldmarkierten anti-Maus-Antikörpern ergab, daß der mAk 5F8 mit Antigen determinanten auf der Bakterienoberfläche reagiert, die jedoch auch in das Kulturmedium abgegeben werden können. In einem vergleichenden Versuch wurden Xanthomonaden, die von *Lobelia erinus*, *L. valida*, *Brassica* spp., Begonien und Pelargonien isoliert wurden, mittels PCR und serologisch geprüft. Während mit mehreren polyklonalen Antiseren im DAS-ELISA keine eindeutige Zuordnung möglich war, ergab der auf dem mAk 5F8 basierende ELISA eine völlige Übereinstimmung mit den PCR-Ergebnissen. Somit steht für die praktische Prüfung von Pflanzenmaterial auf Befall mit *X. c.* pv. *pelargonii* ein hochspezifischer serologischer Test zur Verfügung, der alle bisher geprüften Isolate dieser Pathovarietät erfaßt. In weiteren Untersuchungen soll der praktische Einsatz dieses Testes in Zuchtbetrieben erprobt und optimiert werden. Ein polyklonales Antiserum zum Nachweis von *X. c.* pv. *begoniae* im DAS-ELISA konnte gewonnen werden. Für weitere Untersuchungen über die serologische Verwandtschaft von Xanthomonaden wurde mit der Herstellung von polyklonalen Antiseren gegen *X. c.* pv. *campestris* begonnen. (BAZ-2208)

In Zusammenarbeit mit: Eisbein, Griesbach, BAZ, Inst. f. Epidemiologie u. Resistenz, Aschersleben; Grunewald, BAZ, Inst. f. Zierpflanzenzüchtung, Ahrensburg; Groß, Inst. f. Pflanzenpathologie u. Pflanzenschutz, Univ. Göttingen

053

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

Rabenstein F.; Foroughi-Wehr, B.

Entwicklung von serologischen Methoden zur Bewertung der Resistenz, Erstellung von resistentem Ausgangsmaterial für die praktische Züchtung

Die Untersuchungen mit polyklonalen Antiseren gegen ein Proteinextrakt aus dem Myzel von sechs *Rhynchosporium secalis*-Pathotypen wurden fortgesetzt. Die opti-

male Verdünnung des Pflanzenextraktes sowie der Immunglobuline wurde ermittelt. Eine Verdünnung in PBS-Puffer (pH 7,4) im Bereich von 1:10 bis 1:1000 ergab durchschnittlich etwas bessere Werte als die Verwendung von Coating-Puffer (pH 9,6). Um unspezifische Reaktionen mit gesundem Pflanzenmaterial zu vermeiden, sollten die Immunglobuline im indirekten PTA-ELISA 1:2000 verdünnt werden. Die für den Einsatz im PTA-ELISA am besten geeigneten IgG-Fractionen des Antiserums 52 wurden ausgewählt und auf ihre Kreuzreaktivität mit anderen Pilzgattungen geprüft. Keine Reaktion erfolgte mit Pflanzen, die mit *Puccinia striiformis*, *P. hordei*, *Erysiphe graminis* sowie *Drechslera* spp., *Fusarium* spp. und einer Anzahl von unterschiedlichen Gramineenviren infiziert waren. Andererseits zeigten diese IgGs eine schwache Kreuzreaktion mit gereinigten Myzelextrakten aus *Fusarium* spp. sowie ein starke Reaktion im PTA-ELISA mit Knaulgraspflanzen, die mit *Mastigosporium muticum* infiziert waren. Ein polyklonales Antiserum, das gegen wasserlöslichen Myzelextrakt von *M. muticum* hergestellt wurde, reagierte im PTA-ELISA ebenso mit *Rh. secalis*. In weiteren Westernblotting-Experimenten sollen die Proteinbanden der kreuzreagierenden Antigene näher charakterisiert werden. Der Einsatz des PTA-ELISA unter Verwendung von IgGs aus Serum 52 zur Bewertung der Resistenz von 60 DH-Linien gegen *Rh. secalis* ergab eine signifikante Korrelation zwischen Boniturnoten und ELISA-Meßwerten. Weitere Untersuchungen sind jedoch erforderlich, um die Testempfindlichkeit durch Einsatz der Avidin-Biotin-Technik zu erhöhen. (BAZ-2210)

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

054

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

Beitrag zur Erregerdifferenzierung und zur Pathogene-seaufklärung; methodische Unterstützung der praktischen Resistenzprüfung

Zehn hinsichtlich ihrer Virulenz charakterisierte Erregerisolate wurden auf Unterschiede im Wachstumsverhalten untersucht. Als Kriterium diente der tägliche Koloniezuwachs auf Kartoffeldextroseagar bei 23 °C. Fünf der 10 Isolate (Re Am, Re 96, Re CS 1, Re Ar. 1.3 und Re SMF 1.4) wuchsen schnell, vier (Re NS 1.4, Re 69, Re 100 und Spot 140) mäßig schnell, eines (Spot 85) deutlich langsamer als die anderen. Eine eindeutige Beziehung zur Virulenz war nicht festzustellen. Für den immunologischen Nachweis des Erregers in Gerstenblättern wurden 4 polyklonale Antiseren hergestellt und getestet. Als Ausgangsmaterial zur Immunisierung von Kaninchen dienten folgende Ansätze:

1. (⇒ IgG 122/1-5): In Waschflüssigkeit gelöste Myze-
loberflächenproteine von drei Isolaten (Re Am, Re
96 und Re CS1).
2. (⇒ IgG 39/1-3): Extraktgemisch aus lyophilisiertem
Myzelpulver von acht Erregerisolaten (Re Am, Re
96, Re S 1, Re Ar 1.3, Re SMF 1.4, Re NS 1.4, Re
69 und Re 100).
3. (⇒ IgG 79/1-3): Aus Polycrylamid-Gel (native Gel-
Elektrophorese) ausgeschnittene gemeinsame 31
kD-Proteinbande von fünf Erregerisolaten (Re Am,
Re 96, Re CS 1, Re SMF 1.4 und Re 100).
4. (⇒ IgG 78/1-3): Aus Polycrylamid-Gel (native Gel-
Elektrophorese) ausgeschnittene gemeinsame 116
kD-Proteinbande der gleichen fünf Erregerisolate.

Wie sich nachträglich herausstellte, gehört das Erregeri-
solat Re Ar.1.3, das u.a. in die Herstellung eines der
Antiseren (IgG 39/1-3) einbezogen wurde, nicht zu *D.*
teres, sondern zu einer anderen *Drechslera*-Species. Es
zeigte ein abweichendes Proteinmuster in der Gelelektro-
phorese, wich in den PCR-Ergebnissen von den *D. teres*-
Isolaten ab und reagierte im ELISA nur schwach positiv.
Der dadurch entstandene Verdacht einer falschen Artde-
terminierung bestätigte sich durch mikroskopische Un-
tersuchung der morphologischen Merkmale. Von den
vier Antiseren ergaben drei befriedigende Ergebnisse im
indirekten ELISA hinsichtlich ihrer Reaktion mit homo-
logenen Antigenen, jedoch traten auch erhebliche Kreuzre-
aktionen mit anderen, auf Gerste vorkommenden Pilzen,
z. B. *Epicoccum spec.* und *Ascochyta spec.*, auf. Im Un-
terschied dazu waren keinerlei Kreuzreaktionen mit
gesunden Gerstenblättern festzustellen und lediglich
schwache mit *Fusarium avenaceum* sowie Gelbrost,
Zwergrost und Mehltau (auf befallenen Gerstenblättern).
Das aus der 31 kD-Proteinbande hervorgegangene Anti-
serum (IgG 79/1-3) erwies sich als unbrauchbar. Die
Kreuzreaktivität der Antiseren ließ sich nicht durch Va-
riation des Immunoassays beeinflussen. Zum Beispiel
ergab ein direkter ELISA mit dem IgG 122/5 keine Ver-
besserung gegenüber der Standardvariante. Deshalb
wurde mit der Herstellung neuer Antiseren begonnen.
Parallel dazu wird versucht, die Spezifität der vorhande-
nen Antiseren durch Anwendung verschiedener Reini-
gungsverfahren zu erhöhen. (BAZ-2202)

In Zusammenarbeit mit: Kopahnke, BAZ, Inst. f. Epi-
demiologie u. Resistenz, Aschersleben; Reiss, BAZ, Inst.
f. Resistenzforschung, Aschersleben

055

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

*Erarbeitung von Methoden zum Nachweis von
Phytophthora sp. mittels Serologie, Beschleunigung der
Resistenzbewertung*

Ein von Richter und Gabler (1991) zum Nachweis von
Phytophthora nicotianae in Tomate entwickelter indirek-

ter ELISA mit einem polyklonalen Antiserum wurde an
das Wirt/Parasit-System *SaintpaulialPh. nicotianae* an-
gepaßt. In einem Vorversuch mit sieben Saintpaulien-
Genotypen wurde nachgewiesen, daß visuell erkennbare
Unterschiede im Befallsniveau mit dem ELISA erfaßt
werden können. Davon ausgehend, wurden die Resisten-
zunterschiede zwischen neun weiteren *Saintpaulia*-
Sorten gegenüber sechs Erregerisolaten durch Symptom-
bonitur und ELISA bewertet. Die Infektion der Pflanzen
erfolgte nach einer von Rattig (NL) entwickelten, von
Brielmaier-Liebetanz empfohlenen Inokulationsmethode.
Bereits während des Befallsverlaufes zeigten sich gra-
duelle Unterschiede in der Aggressivität der Isolate und
im Resistenzniveau der Sorten, wobei Symptombonitur
und ELISA im wesentlichen zu gleichsinnigen Resulta-
ten führten. Eindeutige Virulenzunterschiede als Indiz
unterschiedlicher Rassenzugehörigkeit der Isolate waren
hingegen nicht festzustellen. Zur Zeit wird ein von Wolf
und Wirth (Universität Göttingen) entwickelter Enzym-
test am Pathosystem *SaintpaulialPh. nicotianae* erprobt.
Nach ersten Resultaten scheint die Pathogenese mit einer
erhöhten Xylanase- und Cellulaseaktivität in den er-
krankten Pflanzen verbunden zu sein, während kein
Unterschied in der Proteaseaktivität gegenüber den Ge-
sundkontrollen vorhanden war. Die für das Pathosystem
Saintpaulia/Ph. nicotianae entwickelte ELISA-Variante
erwies sich auch als geeignet für den Nachweis des Erre-
gers in Gloxinie (*Sinningia spec.*), einer ebenfalls zur
Familie der *Gesneriaceae* gehörenden Gattung. Auch
hier konnten visuell erkennbare Resistenzunterschiede
zwischen ausgewählten Sorten durch ELISA erfaßt wer-
den. Zwischen zwei Aufbereitungsvarianten der Pflan-
zenproben ("Mörsern" und "Pressen") bestanden unter
den gegebenen Versuchsbedingungen keine sicherbaren
Unterschiede in den ELISA-Ergebnissen. Zur Bestä-
tigung und Vervollständigung der bisherigen Resultate
sind nachfolgend Versuche unter Einbeziehung weiterer
Sorten und Erregerisolate vorgesehen. Nach Abschluß
orientierender Versuche mit fünf *Nicotiana spp.* (vergl.
Jahresbericht 1993) wurde an 15 Sorten bzw. Zucht-
stämmen von *N. tabacum* festgestellt, daß auch hier
visuell erkennbare Unterschiede im Resistenzniveau mit
dem ELISA erfaßt werden können. Auffällig war jedoch
das hohe Resistenzniveau der getesteten Genotypen ge-
genüber dem verwendeten Erregerisolat. Deshalb sollen
weitere Erregerisolate von *Ph. nicotianae* in die Unters-
uchungen einbezogen werden, um die Eignung des ELISA
zur Erfassung von Resistenzunterschieden besser beurtei-
len zu können und sichere Informationen über das Resi-
stenzniveau ausgewählter Tabakssorten zu erhalten.
(BAZ 2211)

In Zusammenarbeit mit: Gerlach, PSA, Berlin; Briel-
maier-Liebetanz, BBA, Inst. f. Pflanzenschutz im Gar-
tenbau, Braunschweig

056

2.6. Gruppenspezifischer Nachweis von Potyviren mit Hilfe von polyklonalen Antisera - Group specific detection of potyviruses by polyclonal antisera
Proll, E.; Rabenstein, F.

Die 1992 begonnenen Untersuchungen zur gezielten Herstellung von polyklonalen Breitband-Antisera gegen aphidenübertragbare Potyviren wurden fortgesetzt. Als Antigene für den 1. Injektionszyklus wurden gereinigte Präparate von potato virus Y (PVY), potato virus A (PVA) bzw. turnip mosaic virus (TuMV) und für die booster-Injektion mit Trypsin abgebaute Antigenpräparate der gleichen Viren verwendet. Von den bisher geprüften Seren erreichte keines die Qualität unseres Standard-Serums TuMV-314. Die Versuche werden fortgeführt. Aus einem Nachbauversuch verschiedener Kartoffelsorten und -zuchtstämme vom Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen in Groß Lüsewitz wurden insgesamt 150 Proben auf PVY-Befall getestet. Dabei wurde die Empfindlichkeit des tissue print immunoblotting (TPI) mit dem indirekten PTA-ELISA unter Verwendung des polyklonalen Antiserums TuMV-314

und der monoklonalen Antikörper P3-3H8 (H.-J. Vetten, BBA, Braunschweig) und PVY-2A4 (Aschersleben) verglichen. Die Übereinstimmung zwischen beiden Verfahren lag zwischen 92 und 95 %. Eine sehr gute Übereinstimmung konnte auch zwischen dem polyklonalen DAS-ELISA und dem TAS-ELISA unter Verwendung des monoklonalen Antikörpers PVY-7C5 (Aschersleben) festgestellt werden. Für die weitere Auswertung müssen die Ergebnisse der Augenstecklingsprüfung und der Dunkelkeimprüfung mit den einzelnen gernteten Knollen abgewartet werden.

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

Träger: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Institut für Phytopathologie und Pflanzenschutz, Arbeitsgruppe Aschersleben

057

Institut für Epidemiologie und Resistenz

Aschersleben

Das Institut für Epidemiologie und Resistenz hat die Aufgabe, die Ausbreitung und Populationsdynamik von biotischen Schaderregern zu erfassen, Methoden zur Selektion auf Resistenz gegen biotische Schaderreger zu erarbeiten und die genetischen Ressourcen auf Resistenz zu evaluieren. Das Institut unterhält eine Pathogenbank für pflanzenschädigende Viren und Pilze.

1. Viren und tierische Schädlinge

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 and generation of basic material with improved resistance

Habeck, A.; Proeseler, G.

Selektion von Genotypen der Gerste mit Resistenz gegen BaMMV, BaYMV-1 und -2 sowie mit Toleranz gegen verschiedene Stämme des BYDV und Bereitstellung von Basismaterial mit Resistenzeigenschaften gegenüber diesen Viren

Die BYDV-Freilandresistenzprüfung 1994 umfaßte 56 bzw. 330 Gaterslebener Herkünfte, die mehrjährig bzw. erstmalig geprüft wurden, 36 DH-Linien, 5 Einzelpflanzenselektionen, 19 aktuelle und andere Sorten sowie 5 Standardsorten. Ein mit 'Post' vergleichbares Toleranzniveau wurde bei 22 bzw. 32 Gaterslebener Herkünften, 26 DH-Linien, 15 F6...F8-Linien und 2 Einzelpflanzenselektionen gefunden. Von den geprüften Sorten wies lediglich 'Noveta' eine etwa annähernd gleiche Toleranz wie 'Post' auf. Von 11 toleranten DH-, F7- bzw. F8-Linien (mit 'Post'-Toleranz) wurde Material an Züchter abgegeben.

Zur Aufklärung der Vererbungsweise der in Gaterslebener Material gefundenen Toleranz sowie zur Kombination von BYDV-Toleranz mit BaMMV-, BaYMV-1 und/oder -2-Resistenz wurden 24 Kreuzungskombinationen erstellt. Von 10 F₁-Generationen werden zur Zeit DH-Linien hergestellt.

Zur Überprüfung der im Freiland erzielten Ergebnisse wird ausgewähltes Material im Gewächshaus unter künstlicher Infektion mit verschiedenen BYDV-Isolaten getestet. Auch 1993/94 wurde im Feld ein Befall mit dem wheat dwarf virus (WDV) beobachtet bzw. serologisch nachgewiesen.

Von besonderem Interesse sind solche Gersten, die gegenüber BYDV und dem Gerstengelmosaik-Virus-Komplex resistent bzw. tolerant sind. Aus diesem Grunde wurden solche mit BaMMV-, BaYMV-1- und/oder -2-Resistenz auf BYDV-Toleranz getestet und umgekehrt. Im Ergebnis dieser Untersuchungen konnten HHOR 3073, HHOR 3097 und HHOR 4224 ermittelt werden, die BYDV-Toleranz mit Resistenz gegen BaMMV und die 2 Stämme des BaYMV kombiniert aufweisen. HHOR 2363

besitzt zwar ebenso diese BaYMV-Resistenz, ist aber BYDV-anfällig. 6 Herkünfte besitzen ein hohes Toleranzniveau gegenüber dem PAV- und dem MAV-Isolat des BYDV sowie BaMMV- und BaYMV-1-Resistenz, aber Anfälligkeit gegenüber BaYMV-2. Bei den übrigen geprüften Gersten sind weitere Untersuchungen zur Aufklärung ihrer Resistenzeigenschaften gegenüber BYDV-MAV und BaYMV-2 erforderlich.

Ausgewählte Wintergersten werden darüber hinaus in der Arbeitsgruppe Pilze des Institutes auf Resistenz z.B. gegenüber *Drechslera teres* und *Puccinia hordei* getestet. (BAZ-2301)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; Graner, BAZ, Inst. f. Resistenzgenetik, Grünbach 058

1.2. Erhöhung der Resistenz von Winterraps gegen das Westliche Rübenvergilbungs-Virus (BWYV) durch klassische und gentechnische Methoden - Teilprojekt Aschersleben - Enhancement in the resistance of winterrape to beet western yellows virus (BWYV) by classical and genetechological methods - project Aschersleben

Graichen, K.

Symptomausbildungen, Befallsermittlungen, Bestimmung der Ertrags- und Qualitätsminderungen beim Winterraps durch BWYV bzw. Wasserrübenvergilbungs-Virus (turnip yellows luteovirus, TuYV), Evaluierung von Rapsgenotypen und verwandten Arten auf BWYV-/TuYV-Resistenz zur Bereitstellung von Resistenzquellen, Untersuchungen zur Vererbung von BWYV-/TuYV-Resistenz bei Raps, Ermittlung der Virulenzunterschiede von BWYV/TuYV-Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft.

Die Symptome des Befalls von Winterraps durch das BWYV/TuYV waren bislang nicht eindeutig zu diagnostizieren. Nach Inokulation von Winterrapsorten, -linien und Resyntheserapsen mit einem virulenten BWYV-/TuYV-Isolat durch Besiedlung mit infektiösen *Myzus persicae* Ende September 1993 wurden ab erster Novemberdekade Anthozyanfärbungen und Rötungen der Blattränder bonitiert. Wachsminderungen traten noch nicht auf. Mit Beginn des Wachstums im Frühjahr 1994 blieben die meisten Winterrapsgenotypen deutlich in der Entwicklung gegenüber nicht infizierten Kontrollpflanzen zurück und wiesen leichte Vergilbungen auf. Ab Mai bildeten die unteren Blätter einiger Genotypen auffällige rot-orangefarbene Chlorosen aus. Bisher wurde derartigen Symptomen kaum Beachtung geschenkt, da sie auch durch abiotische Ursachen, wie Nährstoffmangel, stau-

ende Nässe, Bodenverdichtungen oder pilzliche Krankheitserreger, verursacht werden können.

In 15 von 18 Rapsproben aus Nord-, West-, Mittel- und Süddeutschland wurden im Frühjahr 1994 Befallsraten mit dem BWYV/TuYV von 6 % bis 85 % festgestellt. Kein Befall war in 3 Proben von zwei Standorten aus Norddeutschland nachweisbar. Anfang Juni und Ende November 1994 wurden in Rapsbeständen des Standortes Thüle verstärkt Blattchlorosen bzw. Anthozyanfärbungen und Rötungen der Blattränder festgestellt. Die entnommenen Blattproben wiesen im Juni 1994 Befall von 44 % bis 85 % und Ende November 1994 bereits von 78 % auf. Mit einer Zunahme des Befallsgrades im Frühjahr 1995 sowie starkem Virusbefall auch an anderen Standorten ist zu rechnen.

In Parzellenversuchen mit den Sorten 'Falcon' und 'Zeus' betrug die Ertragsminderungen bei Virusinfektion im Erntejahr 1993 bei beiden Sorten 12 % (Tab. 1). Im Jahr 1994 wurden die Erträge durch Virusbefall bei der Sorte 'Falcon' um 19 % und bei 'Zeus' um 34 % im Vergleich zu den nicht inokulierten Kontrollen vermindert. Die Bestimmung der Qualitätsparameter mittels Nahinfrarotspektroskopie (NIRS) ergaben beim Öl- und Proteingehalt keine signifikanten Differenzen. Im Erntegut aus den Virusparzellen wurde 1994 ein signifikant erhöhter Glucosinolatgehalt (GLS) gemessen. Das Erntegut der Virusparzellen wies 1994 eine höhere TKM auf. Vor endgültigen Aussagen zur wirtschaftlichen Bedeutung des BWYV/TuYV beim Winterraps sind mehrortige Versuchsdurchführungen und weitere Befallserhebungen erforderlich.

derungen, Anthozyanfärbungen und Vergilbungen bonitiert. Die als resistent selektierten Einzelpflanzen waren offensichtlich lediglich infolge unzureichender Blattlausbesiedlung virusfrei geblieben. Die Nachkommen von selektierten Einzelpflanzen der Sorten 'Fertödi' und 'Gorscanski' blieben ohne Virussymptome, wiesen im Vergleich zur nichtinfizierten Kontrolle nur geringe Wuchsminderungen auf. Im ELISA wurden verringerte relative Viruskonzentrationen gemessen, was auf quantitative BWYV-/TuYV-Resistenz schließen läßt.

Eine weitere Ausnahme bildete ein vor 16 Jahren an der Universität Göttingen aus *Brassica oleracea* und *B. rapa* resynthetisierter Winterraps (R 54). Es wurden vier resistente Einzelpflanzen selektiert, deren Nachkommen in der Gewächshausprüfung in einem Fall virusfrei blieben. Bei den übrigen Nachkommen betrug der Anteil infizierter Pflanzen 25 %, 25 % und 75 %. Für die BWYV-/TuYV-Resistenz wird deshalb ein monogener Erbgang angenommen. In der Freilandprüfung ließ sich jedoch in keiner der vier Linien BWYV-/TuYV-Befall nachweisen. Worauf die Unterschiede von Gewächshaus- und Freilandprüfungen beruhen, ist in weiteren Untersuchungen zu klären.

Die vier Einzelpflanzenlinien wurden auf Resistenz gegenüber dem zweiten hochvirulenten BWYV-/TuYV-Isolat BN LP 3/5 geprüft. Die gegenüber dem Isolat BN 5 ASL einheitlich resistente Linie R 54-15 wurde zu 68 % infiziert, andererseits erwies sich die vorher anfällige Linie R 54-5 als einheitlich resistent. Die BWYV-/TuYV-Resistenz im R 54 ist offenbar isolatspezifisch ausgeprägt.

Tab. 1: Ertrags- und Qualitätsbeeinflussung durch BWYV-/TuYV-Infektion beim Winterraps

Sorte	Ertrag (dt/ha)		Öl (%)		Protein (%)		GLS (µmol/g)		TKM (g)		
	1993	1994	1993	1994	1993	1994	1993	1994	1993	1994	
Falcon	Kontrolle	38,70	37,12	45,12	44,54	21,12	22,10	12,32	11,92	4,6	4,6
	BWYV	34,00*	30,00**	45,95	43,98	20,37	23,15	12,42	14,13**	4,8	5,2**
Zeus	Kontrolle	42,20	43,33	46,80	45,02	19,92	21,72	13,90	13,12	4,7	4,8
	BWYV	37,10	28,48**	46,92	44,53	19,75	22,77	14,47	15,49**	4,9	5,5**

* - $\alpha < 0,05$; ** - $\alpha < 0,01$

Zur Ermittlung von Resistenzquellen wurden weitere 340 Winter- und Sommerrapsorten und -linien auf BWYV-/TuYV-Resistenz geprüft. Sämtliche Genotypen erwiesen sich als anfällig. Insgesamt wurden bisher mehr als 13.000 Rapspflanzen in den Gewächshausprüfungen mittels *M. persicae* virusinokuliert und 8 Wochen p.i. im DAS-ELISA auf Virusresistenz geprüft. Mit Ausnahme von vier Einzelpflanzen waren alle infiziert.

Die Freilandprüfungen der Selbstungsnachkommenschaften der in vorherigen Prüfungen als BWYV-/TuYV-resistent ermittelten Einzelpflanzen von 27 Rapsgenotypen ergaben bis auf eine Ausnahme vollständige Anfälligkeit, und es wurden im Frühjahr deutliche Wuchsminderungen

Erste Kreuzungen der anfälligen Winterrapsorten 'Mansholt's', 'Samourai', 'Falcon' und 'Wotan' mit R 54-15 und nachfolgender Prüfung der F₁-Pflanzen auf BWYV-/TuYV-Resistenz ergaben einheitliche Anfälligkeit, was in Verbindung mit den gefundenen Spaltungsverhältnissen in den R 54-Linien auf monogen, rezessiven Erbgang schließen läßt. Definitive Aussagen zur Vererbung sind erst nach Prüfung weiterer Generationen möglich. Durch das Auffinden der BWYV-/TuYV-Resistenz im R 54 sind Voraussetzungen gegeben, molekulare Marker für die markergestützte Resistenzselektion zu entwickeln. Damit ließe sich die bisherige arbeitaufwendige, an Blattlausübertragungen und Virustestungen

gebundene, Resistenzselektion durch eine technisch einfache, indirekte Selektion auf Resistenz ersetzen.

Die Kreuzungseltern des Resyntheserapses R 54 sind *B. oleracea* 'Stone Head' und *B. rapa* ssp. *pekinensis* Nr. 67. Die Sorte 'Stone Head' wurde als hoch anfällig ermittelt. Als qualitativ resistent erwies sich *B. rapa* Nr. 67. Keine der 62 mit dem BWYV-/TuYV-Isolat BN 5 ASL massiv inokulierten Pflanzen wurde infiziert. *B. rapa* ssp. *pekinensis* Nr. 67 ist somit als Spender der BWYV-/TuYV-Resistenz im R 54 anzusehen. Qualitative Resistenz gegenüber der wirtschaftlich bedeutsamen Familie der Luteoviren ist bei den verschiedenen Kulturpflanzentypen bisher in diesem Maße nicht bekannt. Durch die Aufklärung der molekulargenetischen Ursachen der extremen Resistenz im *B. rapa* Nr. 67 ließen sich Ansatzpunkte für neue Resistenzstrategien auch bei anderen Luteovirus-Wirt-Kombinationen erhalten.

Resistenz gegen BWYV-/TuYV konnte in *B. oleracea* var. *capitata* 'Market Victor', var. *sabauda* 'Savoy King' sowie 5 asiatischen Herkünften von *B. capitata*, *B. botrytis* und *B. gongylodes* festgestellt werden, nachdem bereits 38 Genotypen als anfällig ermittelt wurden. Die 9 bzw. 10 Herkünfte von *B. carinata* und *B. nigra* konnten vollständig mit dem BWYV-/TuYV infiziert werden. Einige Herkünfte reagierten im Gewächshaus mit starken Symptomausbildungen und sind deshalb als hoch anfällig anzusehen. Resistente Einzelpflanzen wurden in 5 Sorten von *Raphanus sativus* selektiert.

Zur Ermittlung von Unterschieden in der Virulenz wurden 16 BWYV-/TuYV-Isolate vom Winterraps, *B. oleracea* und *Spinacea oleracea* aus verschiedenen Regionen Deutschlands, Frankreichs, Großbritanniens und Neuseelands mit *M. persicae* auf Winterraps 'Sollux', Sommerraps 'Calypso' und *Capsella bursa-pastoris* übertragen. Der Sommerraps 'Calypso' wurde nach der Virusinokulation ins Freiland ausgepflanzt. Mit dem DAS-ELISA wurden die relativen Viruskonzentrationen gemessen sowie bei 'Calypso' und *C. bursa-pastoris* die Symptomausbildung bonitiert. Fünf Isolate, die bei 'Calypso' starke Wuchsminderungen und durchgehende Rötungen der Blätter verursachten, sind als stark virulent einzustufen. Die übrigen Isolate verursachten deutliche bis schwache Wuchsminderungen sowie abgegrenzte gelb-rote Chlorosen der unteren Blätter. Bei *C. bursa-pastoris* führten Infektionen mit einigen Isolaten zu Wuchsdepressionen bis hin zum Absterben von Einzelpflanzen. Es bestand nicht in jedem Fall Übereinstimmung zwischen der Symptomstärke bei 'Calypso' und *C. bursa-pastoris* sowie Symptomstärke und relativer Viruskonzentration, was bei der Beurteilung der Virulenz zu beachten ist. (BAZ-2308)

In Zusammenarbeit mit: Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben; Peterka, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik, Quedlinburg; Röbbelen, Ecke, Tillmann, Univ. Göttingen; Hammer, Genbank, Gatersleben; Schiemann, BBA, Braunschweig

059

1.3. Untersuchungen der Virus-Vektor-Beziehungen zwischen verschiedenen Aphiden und dem Milden Rübenvergilbungs-Virus (BMV) sowie dem Westlichen Rübenvergilbungs-Virus (BWYV) - Investigations of the virus-vector-relations between different aphid species and the beet mild yellowing virus (BMV) and the beet western yellows virus (BWYV)

Schliephake, E.; Graichen, K.

Es wurde die Eignung verschiedener Blattlausarten zur Übertragung der Luteoviren BMV und BWYV/TuYV geprüft.

Untersucht wurden bisher 20 Aphidenarten bzw. -rassen. Zur Virusakquisition wurden die Aphiden für 24 h auf BMV-infizierte Rüben- bzw. BWYV-infizierte Rapsblätter in Petrischalen gesetzt. Danach wurden jeweils 5 Aphiden auf Keimpflanzen von Rüben (BMV) bzw. Raps (BWYV) übertragen. Je Aphidenart und Virus wurden maximal 56 Pflanzen besetzt. Nach 2 d wurden die Testpflanzen mit einem Insektizid (Pirimor 0,08 %) abgespritzt, um die Aphiden abzutöten, und im Gewächshaus aufgestellt. Die Anzahl infizierter Pflanzen wurde serologisch mittels DAS-ELISA bestimmt. Dazu wurde ein polyklonales Antiserum verwendet, mit dem der Nachweis sowohl des BMV als auch des BWYV/TuYV möglich ist.

Das BMV wurde von lediglich drei Aphidenarten übertragen, zur Übertragung des BWYV waren hingegen 9 der getesteten Arten fähig. Effektivster Vektor beider Viren war *Myzus persicae* mit Infektionsraten von 28,6 % (BMV) bzw. 96,4 % (BWYV). Eine Virusübertragung konnte u.a. auch für die Getreideaphiden *Metopolophium dirhodum* (BMV) und *Sitobion avenae* (BWYV) nachgewiesen werden. (BAZ-2320)

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

060

1.4. Epidemiologie der Getreideaphiden und Evaluierung von Weizen- und Gerstenherkünften auf Resistenz gegen Blattläuse im Gewächshaus und im Freiland - Epidemiology of cereal aphids and screening of wheat and barley material for resistance to aphids in the greenhouse and in the field

Schliephake, E.; Geißler, K.

Evaluierung von ausgewähltem Material aus der Genbank Gatersleben auf mögliche Resistenz gegen die Getreideaphiden-Arten Rhopalosiphum padi, Rhopalosiphum maidis, Metopolophium dirhodum und Sitobion avenae anhand ihrer Vermehrungsfähigkeit

Durch ihr Saugen an Stengeln, Blättern und Ähren können Getreideaphiden den Pflanzen einen beträchtlichen Teil ihrer Nährstoffe entziehen und diese damit direkt schädigen. Darüber hinaus schädigen sie aber auch indirekt als Vektoren des Gerstengelverzweigungs-Virus (barley yellow dwarf virus, BYDV), wobei die Ausbreitung des Virus in direktem Zusammenhang mit der Populationsstärke der Aphiden steht.

Prüfung in der Klimakammer

Um tolerante bzw. resistente Getreideformen zu finden, wurden bisher insgesamt 203 Sippen von Gerste und Weizen unter kontrollierten Bedingungen auf Unterschiede in der Vermehrung der Großen Getreideläus *Sitobion avenae* (125 Sippen), der Haferläus *Rhopalosiphum padi* (152 Sippen), der Bleichen Getreideläus *Metopolophium dirhodum* (109 Sippen) und der Maisblattläus *Rhopalosiphum maidis* (139 Sippen) in der Klimakammer getestet.

Je Prüfling wurden maximal 30 Pflanzen einer Sippe aus dem Getreidesortiment der Genbank Gatersleben im 2- bis 3-Blatt-Stadium mit jeweils zwei L₄-Larven der entsprechenden Aphidenart besetzt und die Pflanzen bei 22 bis 24 °C, 60 bis 70 % rel. Luftfeuchte und einem Hell-Dunkel-Rhythmus von 16:8 h in einer Klimakammer aufgestellt. Nach 14 Tagen wurde die Anzahl der Larven sowie der geflügelten und ungeflügelten Weibchen ermittelt. Zur vergleichenden Charakterisierung der erhaltenen Werte wurde aus dem Verhältnis der mittleren Vermehrung auf den Pflanzen der zu testenden Sippen zu der auf den Pflanzen der jeweils mitgeführten Standardsorte ('Alcedo' für Weizen, 'Erfä' für Wintergerste und 'Haissa' für Sommergerste) ein Vermehrungsindex gebildet.

Unter diesen Bedingungen konnten Formen mit im Vergleich zum Standard signifikant geringerer Blattlausvermehrung gefunden werden. Für *S. avenae* erwiesen sich bisher 14 Weizen- und 2 Wildgerstensippen (Vermehrungsindex 0,25-0,01), für *M. dirhodum* 4 Kulturgersten-, 6 Wildgersten- und 1 Weizensippe (Vermehrungsindex 0,56-0,06), für *R. padi* 1 Wildgersten- und 4 Weizensippen (Vermehrungsindex 0,56-0,27) als resistent.

Freilandprüfung

Im Freiland wurden 14 Wintergersten- sowie 15 Sommergersten- bzw. Weizensippen in Kleinparzellenversuchen getestet. Die Versuche waren als randomisierte Blockanlage in dreifacher Wiederholung mit einer Parzellengröße von 0,4 m² (2 Reihen mit je 1m Länge) konzipiert. Nach Beginn des Blattlausfluges wurden in ein- bis zweiwöchigem Abstand 3 Bonituren durchgeführt, wobei in jeder Parzelle an einem Halm von je 10 Pflanzen die Blattläuse - getrennt nach Arten sowie nach Larven, geflügelten sowie ungeflügelten Adulten - gezählt wurden.

Auch hier ergaben sich zwischen den geprüften Sippen signifikante Befallsunterschiede mit mittleren Befallszahlen zwischen 2,6 und 14,3 (2. Bonitur) bzw. 11,7 und 72,4 (3. Bonitur) Aphiden/Halm in den Sommerformen von Gerste sowie bei Weizen und zwischen 5,5 und 21,9 (1. Bonitur) bzw. 5,1 und 37,7 (2. Bonitur) Aphiden/Halm für die getesteten Wintergersten. Die dominierende Art war *R. padi*, mit fortschreitender Vegetation verstärkte sich der Befall durch *M. dirhodum*. Von *S. avenae* bzw. *R. maidis* besiedelte Pflanzen wurden in den Parzellen nur vereinzelt gefunden und waren für den Gesamtbefall ohne Bedeutung.

Zur Ergänzung der Untersuchungen zur Befallsentwicklung der Getreideaphiden an den Pflanzen wurde ihre Flugaktivität mittels Saugfalle und Gelbschale registriert.

Diese Fänge ergaben eine gleichsinnige Zusammensetzung der Population. Bis Anfang Juli waren insgesamt 9147 Aphiden gefangen. Mit 27,3 % war der Anteil von *R. padi* am höchsten; demgegenüber fielen *M. dirhodum* mit 11,9 % und *S. avenae* mit nur 0,3 % doch deutlich ab. (BAZ-2318)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; Kecke BAZ, EDV-Gruppe, Quedlinburg
061

1.5. Resistenzevaluierung von *Allium*- und *Daucus*-Arten gegen Nematoden - Evaluation of *Allium* and *Daucus* species for resistance to nematodes Habekuß, A.; Schliephake, E.; Geißler, K.

Sortimentscreening, Vervollkommnung von Prüfmethoden, Wechselwirkung zwischen verschiedenen Pathogenen im Hinblick auf Resistenzbrechung

Im Frühjahr 1994 wurden 97 *Allium*-Herkünfte aus der Genbank Gatersleben auf der mit *Ditylenchus dipsaci* natürlich kontaminierten Provokationsfläche in Aschersleben geprüft. Hierzu wurde je Prüfnummer eine Reihe (1 m lang) mit 50 keimfähigen Samen in ein- bis dreifacher Wiederholung Ende März ausgesät. Im Juni erfolgte die Auszählung der Anzahl symptomtragender Pflanzen/Parzelle. Auf Grund der feuchten Witterung in diesem Frühjahr herrschten gute Bedingungen sowohl für die Nematodenentwicklung als auch für das Pflanzenwachstum. Nachfolgende Tabelle zeigt die Häufigkeit der Herkünfte in den einzelnen Befallsklassen.

Tab. 1: Ergebnisse der Nematodenresistenzprüfung von *Allium*-Herkünften

Befallsklasse % Befall	Anzahl Herkünfte
0	3
1-10	0
11-20	15
21-30	18
31-40	28
41-50	19
51-60	11
61-70	1
71-80	2

Von den 97 geprüften Herkünften blieben All 179, All 307 und All 678 befallsfrei. 15 Formen zeigten einen geringen und 18 einen mäßigen Befall. Die übrigen Genotypen sind als anfällig zu bewerten. Der Anfälligkeitsstandard 'Stuttgarter Riesen' wies einen Befall von 56 % auf.

Zur Selektion von Einzelpflanzen mit Resistenz gegen das Wurzelgallenälchen *Meloidogyne hapla* wurden Versuche unter Provokationsbedingungen auf einer Fläche in Aschersleben mit langjährigem, kontinuierlichem Möhrenanbau als randomisierte Blockanlage in zwei- bzw. vierfacher Wiederholung angelegt. Insgesamt wur-

den 40 Sorten, Wildarten-Bastarde bzw. F₁/F₂-Nachkommenschaften von Zuchtmaterial aus Quedlinburg geprüft, je Parzelle 20 Pflanzen geerntet und befallsfreie Exemplare zur Vermehrung nach Quedlinburg überstellt. Die Nachkommen sollen in die weitere Prüfung einbezogen werden. Insgesamt konnten aus 22 Prüfnummern 172 Pflanzen ohne Befall selektiert werden. (BAZ-2309)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

062

1.6. Prüfung ausgewählter Herkünfte aus dem Erbsensortiment der Genbank Gatersleben auf Befallsunterschiede durch den Erbsenwickler (*Cydia nigricana*) - Screening of selected genotypes from the pea collection of the Gatersleben gene bank for differences in infestation by pea moth (*Cydia nigricana*)

Geißler, K.

Selektion von Pflanzen mit Toleranz bzw. Resistenz gegen den Erbsenwickler

Nach numehr dreijähriger Prüfung von 30 Herkünften aus dem Gaterslebener Erbsensortiment unter natürlichen Befallsbedingungen im Freiland zeigten 17 Nummern (s. Tab.) einen deutlich geringeren Befall durch *Cydia nigricana*. 1992 waren in der anfälligsten Variante 35,7 % der untersuchten Hülsen durch Raupen des Erbsenwicklers befallen; bei den in der Tabelle zusammengestellten Prüfnummern differierte der Befall dagegen zwischen 1,9 und 18,0 %. 1993 betrug der Maximalbefall im Versuch 30,5 %, bei den Prüfnummern 0 bis 18,8 % und 1994 konnte bei den ausgewählten Prüfnummern ein Befall zwischen, 0 bis 12,5 %, für die anfälligste Variante im Versuch ein solcher von 27,0 % registriert werden. Im Mittel der drei Jahre wurde mit 1,6 % befallener

Hülsen bei der Nummer M 1278 der geringste und mit 13,5 % bei der Nummer M 1416 der höchste Erbsenwicklerbefall beobachtet. Die Prüfung wird mit den selektierten und weiteren Nummern fortgeführt.

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben
Träger: Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg,
Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz,
Arbeitsgruppe Aschersleben

063

2. Bakterien

2.1. Resistenzinduktion gegen bakterielle Erreger an ausgewählten Wirt/Pathogen-Systemen durch Prämunisierung - Induction of resistance to bacterial causal agents in selected host/pathogen systems by preimmunity

Griesbach, E.; Eisbein, K.; Krämer, I.

Ermittlung von Wirkmechanismen der Resistenzinduktion gegen bakterielle Erreger durch Prämunisierung

Die prämunisierende Wirkung des für Tomate apathogenen Isolats NCPP 3123 von *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Cmm) gegen eine Folgeinokulation mit aggressiven Isolaten dieses Erregers wurde unter Anwendung verschiedenster Inokulationsvarianten zur Prä- und Folgeinokulation auch an nachstehenden Wirt/Pathogen-Systemen geprüft:

- Tomate *IPseudomonas solanacearum*,
IPs. syringae pv. *tomato*,
IXanthomonas campestris pv. *vesicatoria*,
- Paprika */C. michiganensis* ssp. *michiganensis*
- Kartoffel */C. michiganensis* ssp. *sepedonicus*
- Buschbohne *IPs. syringae* pv. *phaseolicola*.

An keinem dieser Systeme konnte eine Verminderung des Krankheitsverlaufs durch Präinokulation mit dem NCPP 3123 festgestellt werden. Dies macht deutlich, daß

Tab. 1: Vergleich der Befallsstärke durch den Erbsenwickler (*Cydia nigricana*) an ausgewählten Prüfnummern des Erbsensortimentes der Genbank Gatersleben in den Jahren 1992-1994

Prüfnummer	relativer Anteil befallener Hülsen			Mittelwert
	1992	1993	1994	
M 714	2,0	4,3	3,7	3,3
M 1055	18,0	9,1	12,5	13,2
M 1116	16,0	0,0	3,6	6,5
M 1183	9,4	0,0	0,0	3,1
M 1193	14,3	0,0	0,0	4,8
M 1278	1,9	0,0	2,8	1,6
M 1291	14,3	13,3	7,8	11,8
M 1416	11,3	18,8	10,3	13,5
M 1418	6,5	0,0	5,4	4,0
M 1419	14,0	0,0	11,1	8,4
M 1484	17,0	0,0	0,0	5,7
M 1485	10,4	5,5	7,3	7,7
M 1488	2,0	3,8	0,0	1,9
M 1499	16,7	9,0	3,9	9,9
M 1519	18,0	5,6	2,9	8,8
M 1544	7,7	2,6	4,9	5,1
M 1985	16,0	10,3	4,1	10,1

es sich beim System Tomate/Cmm um eine ganz spezifische Resistenzreaktion handelt.

Wie sich bei diesen Untersuchungen weiterhin zeigte, ist das NCPP 3123 für Paprika in gleichem Maße pathogen wie aggressive Isolate dieses Erregers. An dieser Wirtspflanze werden bereits 2 bis 3 Tage nach Sprühinokulation zunächst kleine pustelähnliche Flecke auf den Blättern ausgebildet, die sich im Laufe der Zeit vergrößern, schorfartig werden und z. T. Blattfall auslösen. Von den 12 geprüften Paprikasorten erwiesen sich 'Top girl' und 'Schipka' als wenig anfällig.

Am System Tomate/Cmm kann der Prämunisierungseffekt durch das Isolat NCPP 3123 sowohl nach Präinokulation von Jungpflanzen über gestutzte Wurzeln als auch durch Blattachselinejektion ausgelöst werden, bei größeren Pflanzen außerdem durch Tropfen-Inokulation auf frische Ausgeizwunden. Als Optimalvariante erwies sich für Jungpflanzen jeweils eine Blattachselinejektion im Abstand von 8 bis 10 Tagen, wobei Prä- und Folgeinokulation stets in die Achsel des obersten, voll entwickelten Laubblattes erfolgten. Eine Erregerübertragung über frische Ausgeizwunden kann durch eine sofort nach dem Ausgeizen durchgeführte Präinokulation effektiv abgeblockt werden.

Der Prämunisierungseffekt wird bereits sichtbar, wenn zur Präinokulation eine Suspension mit 10^7 Zellen/ml verwendet wird und die Folgeinokulation mit aggressiven Isolaten in einer Dichte von 10^5 bis 10^6 Zellen/ml erfolgt. Wenn von solch massivem Erregerdruck bei der Folgeinokulation ausgegangen wird, erweist sich eine Dichte von 108 Zellen/ml als optimal für die Prämunisierung.

Schiede zwischen einzelnen Cmm-Isolaten werfen die Frage auf, ob sie sich in Morphologie, Größe oder serologischen Reaktionen u. a. m. unterscheiden. Im Durchstrahlungselektronenmikroskop zeigen sich die von Gelplatten mit Aquadest-Tropfen abgetupften und mit Uranylazetat negativ kontrastierten Cmm-Zellen als leicht gebogene, keulenförmige Kurzstäbchen. Diese variieren sehr stark in Form und Größe (meist $0,6 \dots 0,7 \mu\text{m} \times 0,7 \dots 1,2 \mu\text{m}$), ergeben aber hinsichtlich Gestalt und Abmessungen keine Hinweise auf Unterschiede zwischen den apathogenen und den aggressiven Isolaten (Abb. 1). Auch in planta sind keine Unterschiede zu erkennen. Die Schleimhüllen (EPS) der Cmm-Zellen stellen sich in Ultradünnschnitten von Tomatenpflanzen vor allem in Interzellularräumen bei großer Bakterienkonzentration meist ausgeprägt dar (Abb. 3a).

Mit der Immungoldkolloidmarkierung konnten im Elektronenmikroskop bezüglich der serologischen Reaktionen mit poly- und monoklonalen Antikörpern bisher ebenfalls keinerlei Unterschiede zwischen den Cmm-Isolaten gefunden werden. Die Goldpartikeln (5 nm) markierten bei allen Isolaten vorwiegend die den Bakterienzellen anliegenden Schleimhüllen und die abgeschwemmte, in der freien Fläche verteilte EPS der Erregerzellen (Abb. 2).

Lichtmikroskopisch zeigten Verbräunungen an Stengelquerschnitten inokulierter Tomatenpflanzen, daß das apathogene Isolat sich gleichschnell wie virulente Cmm-Isolate über die Leitungsbahnen in der Pflanze ausbreitet. Allerdings wurden nach Infektion mit aggressiven Cmm-Isolaten im Bereich der Verbräunungen starke Zerstörungen des Leitgewebes und gelbe Bakterienansammlungen beobachtet.

Tab. 1: Charakterisierung des resistenzinduzierenden Cmm NCPP 3123 und Vergleich mit aggressiven Cmm-Isolaten

Merkmale bzw. Eigenschaften	R.-induzierendes Cmm		aggressive Cmm-Isolate
Resistenzinduktion durch:			
intakte Zellen	ja		
hitzegetötete Zellen	ja		
Welkeinduktion bei Tomate	keine		sichtbar ab 10. Tag p.i.
Ausbreitung in der Tomate		in vegetativen Teilen etwa gleich	
Pathogen für Paprika	ja		ja
Zellmorphologie und -größe		gleich	
Antagonismus		nicht vorhanden	
Proteinmuster		gleich	
DNS-Zusammensetzung		Unterschiede nachweisbar	
EPS-Bildung	rel. gering		sehr reichlich
EPS-Komponenten	sehr gering	Fucosebildung	reichlich
Reaktion mit Cmm-Antisera		gleich	

Nach den bisherigen Untersuchungen kann das resistenzinduzierende Isolat im Vergleich zu aggressiven Cmm-Isolaten wie in Tabelle 1 dargestellt charakterisiert werden.

Die Fähigkeit des apathogenen Cmm-Isolats NCPP 3123 zur Prämunisierung und die großen Pathogenitätsunter-

Die elektronenmikroskopisch zunächst nur in den Gefäßen gefundenen apathogenen bzw. virulenten Cmm-Zellen waren mitunter schon 2 d p.i. auch in angrenzenden Interzellularräumen und Parenchymzellen zu sehen. Rasterelektronenmikroskopische Untersuchungen besagen, daß bei infizierten Tomatenpflanzen die Bakterien-

ansammlungen in intakten Tracheen zu gering sind, um Verstopfungseffekte als Welkeursache anzunehmen. Erst im fortgeschrittenen Krankheitsstadium ergeben sich durch die hohe Konzentration aggressiver Cmm-Zellen an den Gefäßen so starke Schäden, daß der Wassertransport unterbrochen wird.

Besonders interessante Beobachtungen ergaben sich bei Ultradünnschnitten von mit dem resistenzinduzierenden Isolat inokulierten Tomatenpflanzen, wo elektronendichte, schwarze Körper am Tonoplast auffielen (Abb. 3). Vermutlich ist der Tonoplast der Entstehungsort der zunächst linsenförmigen bis ovalen Gebilde. Vorstellbar ist, daß diese Gebilde Übergangsformen für die kugelförmigen elektronendichten Körper sind, die sich zum Zellinneren in die Zentralvakuole abschnüren (Abb. 3b).

Bei defektem Tonoplast fanden wir derartige Körper auch an Hüllmembranen von Chloroplasten und Mitochondrien. Auf Grund unserer Vermutung, daß diese elektronendichten Partikeln an den genannten Membranen entstehen, bezeichnen wir sie als membranogene Partikeln. Die Bildung dieser bisher nur in prämunisierten Tomatenpflanzen gefundenen Partikeln könnte eventuell als Abwehrreaktion der Wirtszelle gedeutet werden. (BAZ-2310)

Gefördert durch die DFG

In Zusammenarbeit mit: Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben; Ramm, Völksch, Müller, Univ. Jena; Eichenlaub, Univ. Bielefeld

064

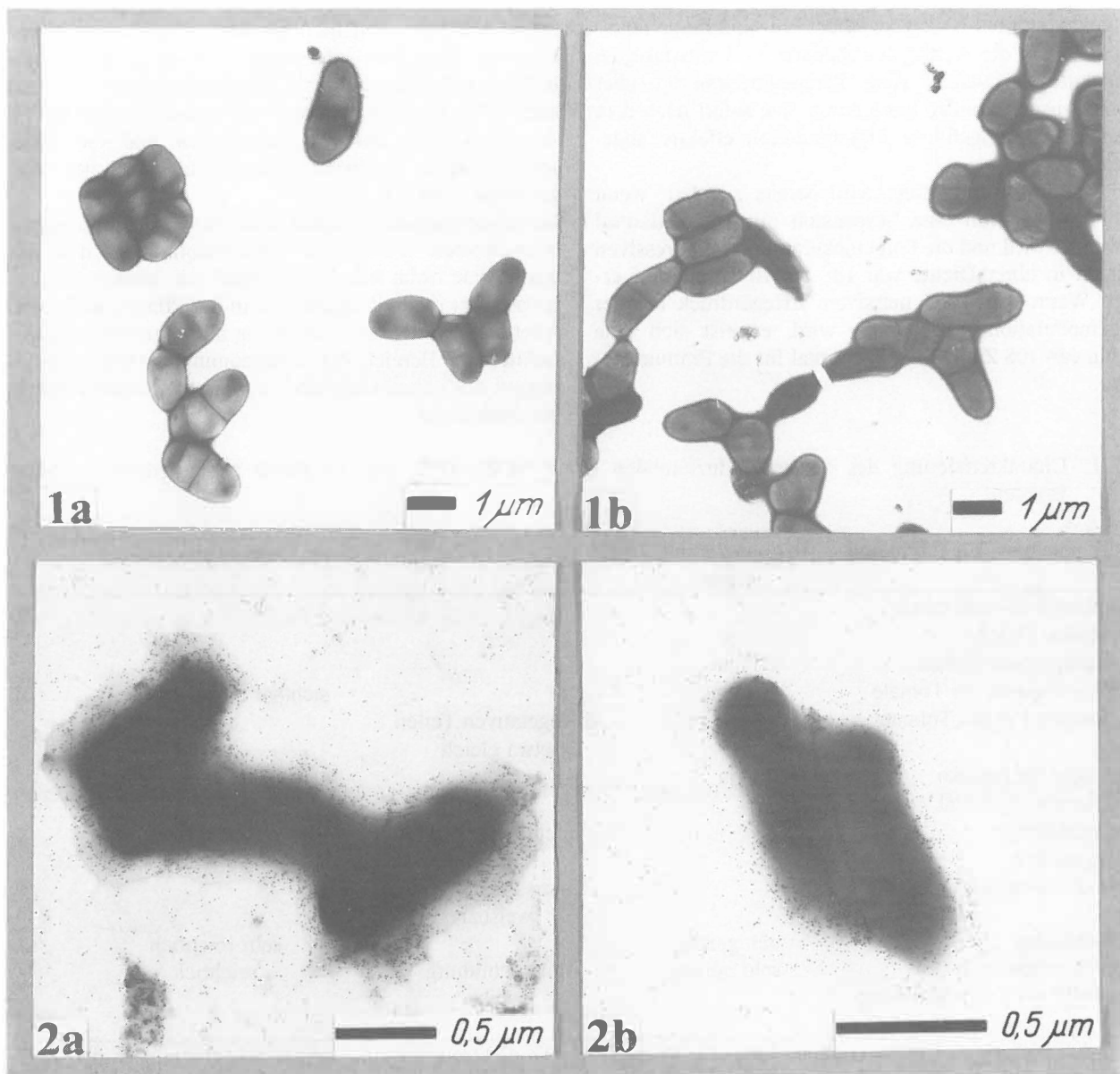


Abb. 1 und 2: Isolierte Cmm-Zellen im Elektronenmikroskop

Abb. 1: Mit Uranylazetat kontrastierte Zellen vom apathogenen Cmm 3123-Isolat (1a) und aggressiven Cmm 3.1.4.-S-Isolat (1b)

Abb. 2: Cmm-Zellen nach Immungoldkolloidmarkierung. Die Goldpartikeln (5 nm) sind den Bakterienhüllen und der frei auf dem Trägerfilm liegenden EPS angelagert. - Bakterienzellen des 3123-Isolats (2a) und des 3.1.4.-S-Isolats (2b)

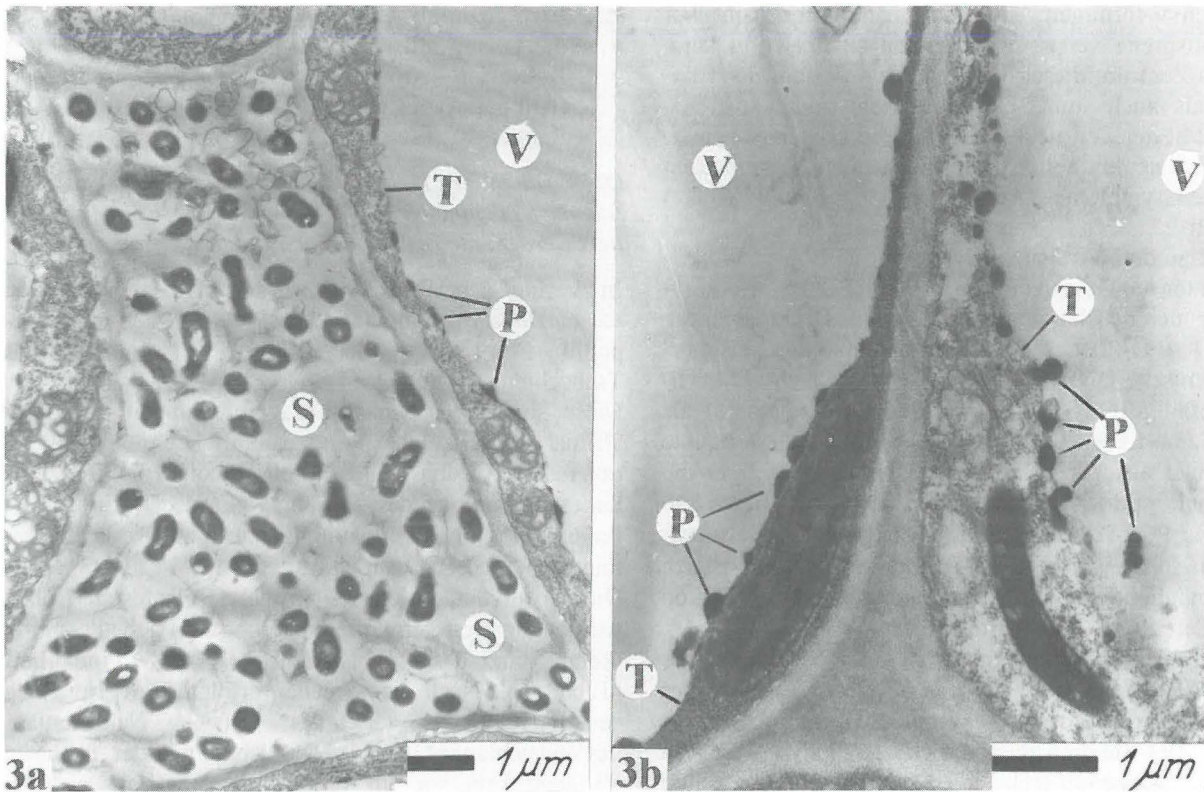


Abb. 3: Ultradünnschnitte von Tomatenpflanzen nach Inokulation mit dem Cmm 3123-Isolat. Membranogene elektronendichte Partikeln (P) am Tonoplast (T) von Parenchymzellen des Stengelleitgewebes, 2 d p. i.; Vakuole (V).

Abb. 3a: Bakterienzellen mit deutlich abgegrenzten Schleimhüllen (S) im Interzellularraum, 6 d p. i.

Abb. 3b: Am Tonoplast (T) ansitzende und in die Vakuole (V) hinein abgeschnürte elektronendichte Partikeln (P), 2 d.p.i.

2.2. Epidemiologische und diagnostische Untersuchungen an den Wirt/Pathogen-Systemen Begonie, Pelargonie/*Xanthomonas campestris*-Pathovare - Epidemiological and diagnostic studies on the host/pathogen systems begonia, pelargonium/*Xanthomonas campestris* pathovars Griesbach, E.; Krämer, I.; Naumann, K.; Rabenstein, F.

Nutzung der Ergebnisse epidemiologischer und diagnostischer Untersuchungen für Resistenzevaluierungen bzw. zur Differenzierung bakterieller Erreger

Virulenzanalysen mit 30 Isolaten von *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* (Xcp) an 2 Linien von *Pelargonium zonale* zeigten sehr große Unterschiede, die weder auf die regionale Herkunft der Erreger noch auf die Länge ihrer Kultivierungszeit auf Agar zurückzuführen sind. Dies zeigte sich etwa in gleicher Weise an beiden Pelargonien-Linien, die sich in ihrer Anfälligkeit unterscheiden. Hervorzuheben ist, daß sich z. T. auch Isolate als sehr pathogen erweisen, die länger als 10 Jahre nur noch auf Agar kultiviert worden sind. Mit 5 besonders aggressiven Isolaten wurden an beiden Pelargonien-Linien folgende Inokulationsmethoden vergleichsweise

geprüft:

- Auftropfmethode (nach KREBS/PSA Hannover): Von Jungpflanzen werden jeweils die Vegetationskegel entfernt und auf frische Schnittstellen 30 µl Erregersuspension gleicher Dichte wie in den beiden folgenden Methoden aufgetropft.
- Tauchmethode: Stecklinge werden sofort nach dem Abschneiden von der Mutterpflanze für 1 oder 2 Stunden in die Erregersuspension getaucht und danach in Erde gebracht.
- Steinwolle-Methode: Frisch geschnittene Stecklinge werden in Steinwollewürfel gesteckt, die sich in Schalen mit Erregersuspension befinden.

Letztgenannte Methode ist wegen zu starker Fäulnis der Stecklinge nicht geeignet. Auftropf- und Tauchmethode führen etwa zu gleichen Ergebnissen. Die unterschiedliche Anfälligkeit der beiden Pelargonien-Linien zeigte sich auch bei diesen Versuchsserien immer wieder. Bei beiden Inokulationsmethoden erscheinen bereits bei einer Erregerdichte von 10^2 Zellen/ml auf den Pelargonienblättern kleine wasserdurchtränkte Flecke, die häufig im Bereich des Blattrandes, manchmal gehäuft in einer

typischen V-förmigen Anordnung, z. T. aber auch über die Blattspreite verstreut, zu finden sind. Häufig kann man im Zentrum dieser "Ölflecke" sowohl auf der Blattober- als auch -unterseite Bakterienexsudat austreten sehen. Mit der Zeit nekrotisieren diese Lokalläsionen; z. T. werden sie durch die später auftretenden systemischen Krankheitssymptome (Adernverfärbungen und Welke) "maskiert".

Parallel zu den Virulenzanalysen mit *X. c. pv. pelargonii*-Isolaten unterschiedlicher geographischer Herkunft erfolgte deren Charakterisierung und Differenzierung mittels RAPD-PCR. Als Ausgangsmaterial diente isolierte genomische DNS. Für die Analysen kamen willkürliche, zufällige Oligonukleotidsequenzen (Decamere) als Primer zum Einsatz. Unter 40 geprüften Primern konnte ein Primer ausgewählt werden, der einen für *X. c. pv. pelargonii* spezifischen DNS-Marker liefert. Dieses 340 bp große PCR-Amplifikationsprodukt ist für alle untersuchten Isolate von *X. c. pv. pelargonii* charakteristisch und ermöglicht eine Differenzierung dieser Pathovar von den anderen *X. c.*-Pathovaren (Abb 1).

Anhand des spezifischen amplifizierten DNS-Fragmentes konnte ein bisher der Pathovar *begoniae* zugeordnetes Isolat als zur Pathovar *pelargonii* gehörig identifiziert werden. Des weiteren zeigten die PCR-Analysen, daß ein *X. c. pv. pelargonii*-Isolat mit Herkunft aus dem Raum Reinland-Pfalz nicht zu dieser Pathovar gehören kann.

Die Ergebnisse wurden durch serologische Untersuchungen und mittels Biotests an Pelargonienpflanzen bestätigt. (BAZ-2315)

065

2.3. 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.

Die Virulenz der Isolate von Bakterien wird untersucht. Aus dem Zuchtmaterial des Obstes sollen Formen selektiert werden, die resistent gegen Bakterien sind.

Im Verlauf des Jahres 1993 wurden insgesamt 53 *Erwinia amylovora*-Isolate aus Befallsgebieten der Bundesrepublik Deutschland, der Schweiz, Frankreichs und Tschechiens gesammelt.

Diese sind 1994 zunächst an Veredlungen der Sorte 'Prima' im Gewächshaus hinsichtlich ihrer Virulenz untersucht worden. Als Kontrolle dienten die drei virulentesten Stämme des Vorjahres (Ea91, D; Ea115, D; Ea361, CH), die als Inokulumgemisch zur Resistenzevaluierung eingesetzt worden waren.

Die 10 an der Apfelsorte 'Prima' virulentesten Isolate wurden zur weiteren Differenzierung in Triebe der Sorte 'Remo' und des Zuchtstammes (ZS) 181 inokuliert (Tabelle 1). Nach vier Wochen erfolgte die Ermittlung des relativen Befalles (= Nekrosenlänge/Neutrieblänge*100 %). Das Isolat mit der höchsten Virulenz kam wie im vorangegangenen Jahr aus der Schweiz. Bemerkenswert ist hierbei der relativ hohe Befall am resistenten Zuchtstamm 181 in diesem Jahr, der die Notwendigkeit jährlicher Virulenzuntersuchungen noch einmal unterstreicht.

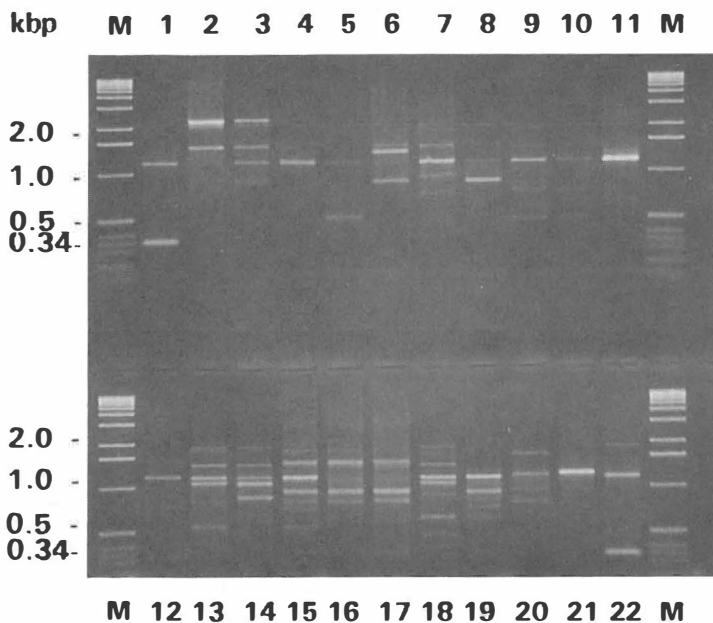


Abb. 1: RAPD-PCR von 12 *Xanthomonas campestris*-Pathovaren (verschiedene Isolate) M-DNS-Marker (1kb-Leiter); 1, 22 - Isolate der Pathovar *pelargonii*; 2, 3 - Isolate der Pathovar *graminis*; 4 - Pathovar *translucens*; 5, 6 - Isolate der Pathovar *cerealis*; 7 - Pathovar *undulosa*; 8, 9, 10 - Isolate der Pathovar *malvacearum*; 11 - Pathovar *vasculorum*; 12 - Pathovar *vesicatoria*; 13, 14, 15, 16, 17 - Isolate der Pathovar *campestris*; 18 - Pathovar *phaseoli*; 19 - Pathovar *pruni*; 20 - Pathovar *citri*; 21 - *Pseudomonas cichorii*

Tab. 1: Triebbefall (%) an verschiedenen Apfelsorten als Maß für die Virulenz von *Erwinia amylovora*-Stämmen unterschiedlicher Herkunft

Stamm-Nr.	Herkunftsland	Triebbefall (%)		
		'Prima'	'Remo'	ZS 181
91 (K)	D	74,2	15,9	7,9
180	CH	74,7	28,9	17,7
188	CS	68,7	20,4	0,1
139	D	68,5	7,3	4,0
178	F	65,3	7,1	5,4
133	D	61,6	7,9	2,5
143	D	60,2	28,3	4,8
129	D	57,9	11,1	12,4
174	F	54,4	9,8	3,3
136	D	53,9	7,7	6,3

Für die Evaluierung von Zuchtmaterial wurde ein Gemisch der Stämme 91, 180 und 143 verwendet.

Im Vergleich zum Vorjahr war insgesamt ein höherer Resistenzgrad zu verzeichnen.

Zwei Zuchtstämme blieben völlig befallsfrei. Neun weitere erwiesen sich als resistent bis schwach anfällig (Boniturnoten 9 - 8). Lediglich fünf Zuchtstämme reagierten hoch anfällig.

Im Institut für Epidemiologie und Resistenz besteht seit 1994 erstmals die Möglichkeit, die Symptomentwicklung bei Pflanzenkrankheiten kontinuierlich zu beobachten, zu dokumentieren und in geraffter Form sichtbar zu machen.

Die Entwicklung von Blüten- und Triebinfektionen beim Feuerbrand (*Erwinia amylovora*), der Austritt von Bakterien Schleim und die Entstehung von "strands" (Bakterienfäden) konnten durch Videoaufnahmen zeitlich gerafft gezeigt werden.

In drei Versuchen mit der gleichen hoch anfälligen Birnensorte kam es nach jeweiliger Erregerinokulation durch Anschneiden eines sich entfaltenden jungen Blattes mittels kontaminierter Schere in allen Fällen zur Infektion. Die Bakterien breiteten sich im Gewebe latent aus. Danach verlief die Symptomentwicklung auf drei verschiedenen Wegen:

- (1) Der Blattstiel starb von der Basis her sehr rasch ab.
- (2) Der Blattstiel verfärbte sich gleichmäßig und starb ab.
- (3) Der Blattstiel nekrotisierte (wie eigentlich erwartet) vom Blatt ausgehend in Richtung Trieb.

Lediglich in der letzten Variante traten Bakterienfäden (die sogenannten "strands") aus, und der Trieb erkrankte schwer.

Durch die kontinuierliche Beobachtung von Infektionsvorgängen können Rückschlüsse auf Wechselwirkungen zwischen Erreger und Wirtspflanze sowie vorhandene Resistenzmechanismen gezogen werden. Die Länge zeitlicher Abläufe läßt sich auf diese Weise exakt ermitteln.

Die gegenwärtig zur Gehölzanzucht verfügbaren Obstunterlagen wurden auf ihre Widerstandsfähigkeit gegenüber *Agrobacterium tumefaciens*, den Erreger des Wurzelkropfes der Obstgehölze, getestet.

Dazu ist eine geeignete Prüfmethode entwickelt worden. Zwei gegenüberliegende Schnitte in die Rinde am Wurzelhals von ca. 1 cm Länge dienten als Eintrittspforten für den Erreger. Hinter die Rindenzungen wurde das Inokulum (eine Bakterien suspension mit 10^9 Keimen/ml) gepinselt, anschließend die abstehenden Rindenteile mit einem Okulationsschnellverschluß wieder angelegt und somit vor Austrocknung geschützt.

Bei allen geprüften Gehölzgattungen waren bereits nach 4 Wochen deutliche Symptome sichtbar. 4 und 12 Wochen p.i. wurden die Ausmaße der Wucherungen gemessen und ihr Volumen berechnet.

Die größten Wucherungen waren mit $16,8 \text{ cm}^3$ (!) bei *Prunus avium* F12/1 und *P. avium* 'Odenwald' mit 11 cm^3 zu verzeichnen. Von den *Malus*-Unterlagen zeigte M9 mit $7,8 \text{ cm}^3$ die größten Tumore (Bittenfelder Sämling: $4,5 \text{ cm}^3$; MM 106: $3,9 \text{ cm}^3$).

Bei der parallelen Testung von 11 Zuchtstämmen aus der Gattung *Prunus** reagierten die Unterlagen sehr unterschiedlich. Einige Formen zeigten starke Wucherungen, manche reagierten mit Tumorbildung und Gummifluß, andere wiesen nur Gummifluß auf. Weitere Untersuchungen sind vorgesehen. (BAZ-2312)

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

066

3. Pilze

3.1. Virulenzanalyse und Selektion von resistentem Ausgangsmaterial bei der Wirt/Pathogen-Kombination Gerste/*Puccinia hordei* - Analysis of virulence and selection for resistant material for the host/pathogen combination barley/*Puccinia hordei*

Walther, U.

Aussagen zur Entwicklung von Zwergrostpopulationen und aktuellen Virulenzen, Vergleich der Populationsentwicklung von 1992 bis 1994 für Deutschland und benachbarte Länder, Selektion von Basismaterial mit partieller Zwergrostresistenz bei künstlicher Infektion im Feldversuch, Vorbereitung von mehrortigen Prüfungen

des selektierten Basismaterials in einem gemeinsamen Projekt AG "Getreide" der GFP und der BAZ

Bei der Untersuchung von 77 Populationen und 208 Einzelpustellinien*, die vorwiegend in Deutschland, aber auch in Österreich, Ungarn, Frankreich, Dänemark und Großbritannien gesammelt wurden, konnten Virulenzen für die Resistenzgene Pa1, Pa2, Pa3, Pa4, Pa2+ sowie für die Differentialsorten 'Trumpf', 'Lada', 'HOR 1132 sel.' und 'HOR 500-1' bestimmt werden. Im Gegensatz zu 1992 und 1993 wurden 1994 nur geringe regionale Unterschiede für das Vorkommen der Virulenz für 'Trumpf' und Pa3 beobachtet. Betrug z. B. die Häufigkeit der Virulenz für Pa3 1992 in Norddeutschland nur ca. 50 %, so erreichte sie 1994 etwas mehr als 80 %. Analog zu den Vorjahren war die Komplexität der Virulenz der Isolate bzw. Populationen in Deutschland im Vergleich zu den Nachbarstaaten höher. Die Untersuchungen einer repräsentativen Anzahl Einzelpustellinien zeigen von 1992 bis 1994 eine signifikante Angleichung der Virulenzgenzusammensetzung der Zwergrostpopulationen in obengenannten Ländern. In Diagramm 1 wird dies am Beispiel von Deutschland, Großbritannien und Frankreich dargestellt. Virulenz für 'HOR 1132 sel.' wurde zu ca. 10 % in allen Herkunftsländern nachgewiesen, die in den Ländern auf dem europäischen Festland gesammelt wurden, fehlte jedoch in Großbritannien. Das Resistenzgene Pa7 blieb in allen Ländern voll wirksam.

In Weiterführung der Arbeiten zur Einlagerung partieller Zwergrostresistenz aus den Wildgersten HOR 4414, HOR 4284, HOR 3564, AC 3612, HOR 1063, HOR 3034, HOR 3817, HOR 3818, 'Rabat' und 'Nepal 81' in die Sorten 'Salome' bzw. 'Krona' wurden 870 Linien mit einem Resistenzniveau besser/gleich 'Vada' selektiert. Damit wurden die Feldprüfungen am Standort Aschersleben abgeschlossen. Das Material soll 1995 in einem Projekt gemeinsam mit der AG "Getreide" der GFP mehrortig in Züchtungsfirmen in verschiedenen Gebieten und damit unter verschiedenen Umweltbedingungen auf Stabilität der Resistenz geprüft werden. Weiterhin wurden 1994 erstmalig 500 bisher nicht untersuchte Sippen des Gaterslebener Sortimentes in die Prüfungen einbezogen. (BAZ-2302)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; Felsenstein, TU München

* Dr. Felsenstein sei gedankt für die Bereitstellung von Material aus den Sammlungen mit der mobilen Sporenfalle in Europa

067

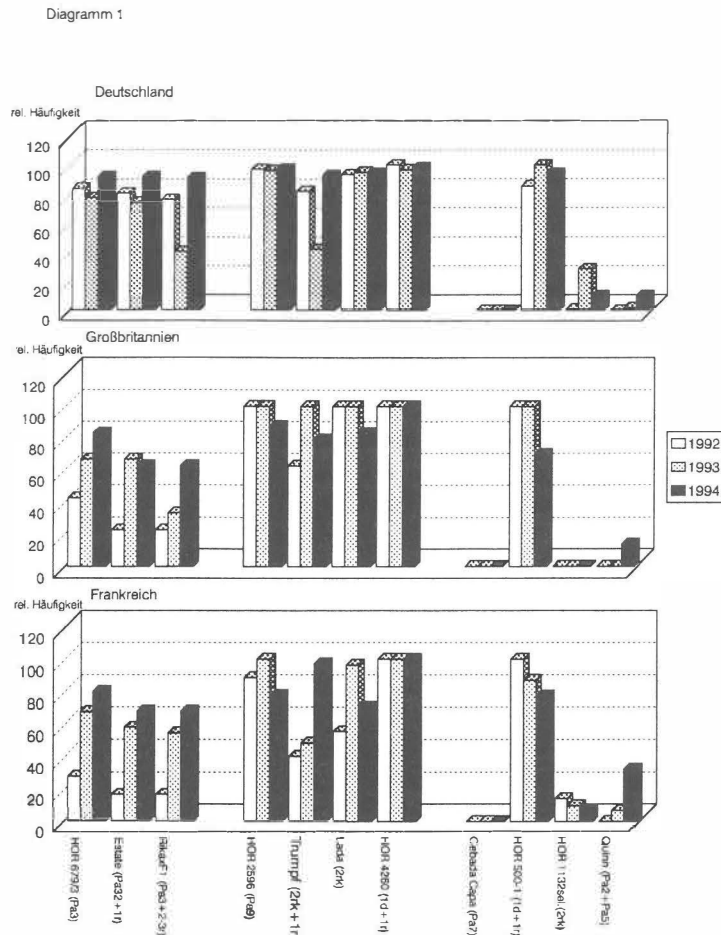


Diagramm 1: Veränderungen in der Häufigkeit ausgewählter Virulenzgene des Zwergrostes (*Puccinia hordei* Otth) in Deutschland, Großbritannien und Frankreich von 1992 bis 1994

3.2. 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 of barley to leaf rust and its application to the breeding of barley by means of double haploids

Kicherer, S.; Walther, U.

Anhand von ca. 300 DH-Linien mit unterschiedlichem Niveau partieller Zwergrostresistenz sollen über QTL-Analyse Marker gefunden werden.

Mit den neu erstellten DH-Linien aus der Kreuzung 'Krona' x HOR 1063 wurden die Versuche mit einer um 150 Linien erweiterten Anzahl planmäßig fortgesetzt. Ein Feldversuch mit 358 Linien in vier Wiederholungen ergab trotz witterungsbedingt niedrigen Zwergrostbefalls eine gewisse Differenzierung hinsichtlich des Resistenzniveaus: im Vergleich zum anfälligeren Elter ('Krona') erwiesen sich 111 Linien als statistisch gleich, zwei als anfälliger und 245 als weniger anfällig. Aus den 238 bisher einem Schalentest mit der Rasse 'I 80' unterzogenen Linien wurden drei Klassen bezüglich der Zwergrostresistenz gebildet, wobei 22 Linien weniger anfällig, 216 statistisch gleich und 20 stärker anfällig als das Versuchsmittel waren.

Im Institut für Epidemiologie und Resistenz wurden in Zusammenarbeit mit dem Institut für Resistenzforschung am Standort Aschersleben die zur QTL-Bestimmung notwendigen molekularbiologischen Techniken etabliert und mit der Anlage einer Stammkultursammlung begonnen. Diese besteht aus RFLP-Sonden, die vom Lehrstuhl für Pflanzenzüchtung der TU München zur Verfügung gestellt worden sind. Das Sondenscreening im Hinblick auf Polymorphismen in der Kreuzung 'Krona' x

HOR 1063 wurde fortgesetzt. Dabei wurden weitere 20 polymorphe Klone gefunden, so daß sich jetzt auf Chromosom 1H und 6H je sieben, auf 2H und 7H je neun, auf 3H sechs, auf 4H vier und auf 5H 16 polymorphe Sonden befinden. Gleichzeitig wurde mit der Hybridisierung der polymorphen Sonden auf DH-Linien begonnen. Das Pflanzenmaterial der neu erstellten DH-Linien wurde angezogen und zur Isolation vorbereitet. (BAZ- 2303) In Zusammenarbeit mit: Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, TU München
068

3.3. Erarbeitung einer Methode zum quantitativen Nachweis von *Puccinia hordei*-Myzel in Blättern von Sommergerste-Genotypen zum Zweck der Resistenzbewertung - Development of a method for showing mycelium of *Puccinia hordei* in leaves of genotypes of spring barley for the evaluation of resistance

Müller, D.; Walther, U.

Bestimmung der Pilzmyzelmenge über die Enzymproduktion, Vergleich des Resistenzniveaus von DH-Linien mit quantitativer Resistenz

Für die exakte Beurteilung von quantitativer Resistenz bei der Wirt-Pathogen-Kombination Sommergerste-Zwergrost reicht die Genauigkeit der traditionellen visuellen Boniturmethode nicht mehr aus. Mit einem einfach zu handhabenden 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.

Im Verlauf der bisherigen Untersuchungen konnte ge-

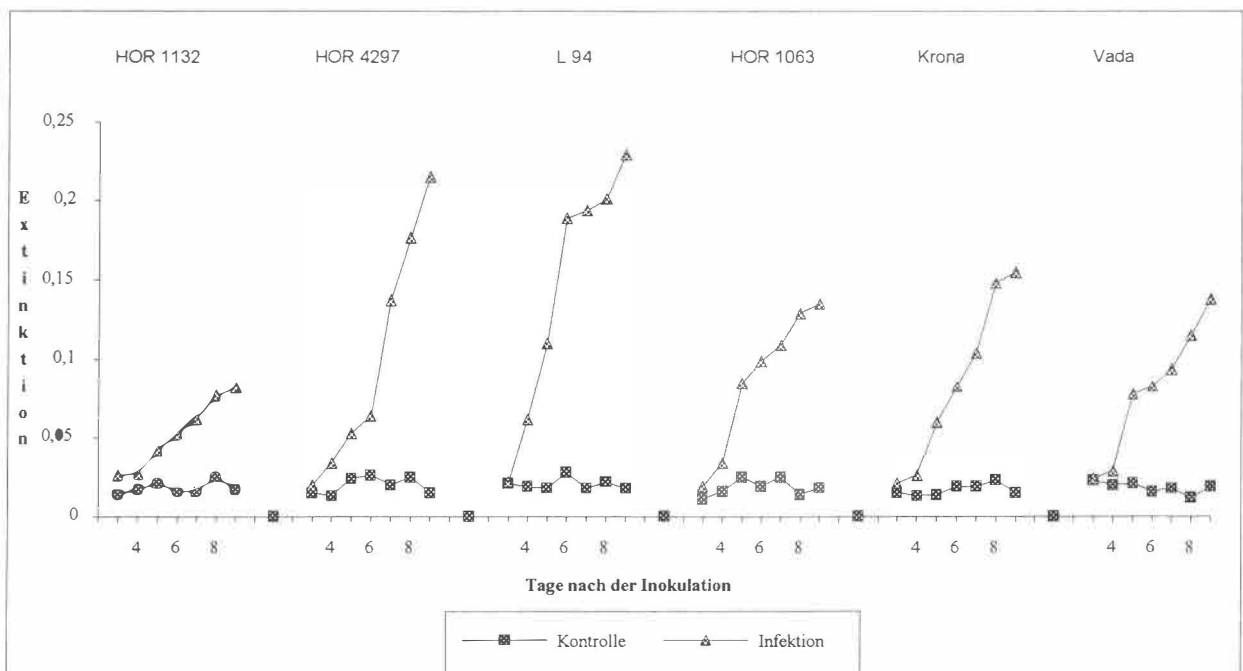


Abb. 1: Dynamik der Proteaseaktivität in den Primärblättern von sechs Sommergersten-Genotypen unterschiedlicher Zwergrostanfälligkeit nach Inokulation mit der virulenten Rasse 'I 80', ausgedrückt in Extinktionswerten

zeigt werden, daß die Proteaseaktivität in der interzellulären Waschflüssigkeit aus Primärblättern zwergrostinfizierter Sommergerstpflanzen im Vergleich zu nicht infizierten Pflanzen deutlich gesteigert ist. Bei anfälligen Genotypen zeigte sich diese Aktivitätssteigerung stärker als bei wenig anfälligen bzw. resistenten Genotypen ausgeprägt.

Nach einer Zwergrostinfektion war somit über die Messung der Proteaseaktivität mittels des Enzymtests eine Zuordnung zu den drei Anfälligkeitsklassen "resistent" (HOR 1132), "moderat anfällig" ('Krona', 'Vada', HOR 1063) und "anfällig" (L 94) möglich (Abb. 1). Probleme bereiteten hypersensibel reagierende Genotypen (HOR 4279), die sich so nicht einordnen ließen. Bei alleiniger Betrachtung der Proteaseaktivität wären sie als anfällig eingestuft worden, da die Hypersensibilitätsreaktion mit einer ebenso deutlichen Steigerung der Proteaseaktivität wie bei wirklicher Anfälligkeit einherging.

Für die weiterhin untersuchten Enzyme Cellulase und Xylanase konnten zwischen infizierten und nicht infizierten Pflanzen keine Aktivitätsunterschiede gefunden werden.

In Zusammenarbeit mit: Wolf, Univ. Göttingen
069

3.4. Evaluierung eines 500 Sippen umfassenden Sortimentes von *Hordeum spontaneum* auf Resistenz gegen *Puccinia hordei* und *Erysiphe graminis* - Evaluation of a collection of 500 samples of *Hordeum spontaneum* for resistance to *Puccinia hordei* and *Erysiphe graminis*
Prochnow, J.

*Ein 500 Sippen umfassendes Sortiment von *Hordeum spontaneum* soll hinsichtlich seiner quantitativen und qualitativen Resistenzeigenschaften gegen *Puccinia hordei* und *Erysiphe graminis* beschrieben werden.*

Im Jahr 1994 erfolgte der Feldanbau der Sippen zur Vermehrung, um für die geplanten Prüfungen ausreichend Saatgut zur Verfügung zu haben. Der Vermehrungsanbau erfolgte bei künstlicher Infektion mit einem Rassengemisch des Erregers *Puccinia hordei*, um erste Aussagen zu quantitativen Resistenzeigenschaften zu treffen und eine Vorselektion für den weitergehenden Feldanbau durchzuführen.

Parallel dazu wurde an den Keimpflanzen die Resistenz gegen das hochvirulente Isolat I' 80' getestet. Es wurden 41 Sippen gefunden, die befallsfrei blieben. Diese im Keimpflanzentest ermittelten Sippen bestätigten ihre Resistenz auch im Feldversuch. Zusätzlich konnten weitere 11 Sippen selektiert werden, die im Keimpflanzentest anfällig reagierten, jedoch als adulte Pflanze resistent blieben, so daß eine Altersresistenz angenommen werden kann.

Neben der Erfassung der vertikalen Resistenz wurde im Versuchsfeld durch Ermittlung der Befallsverläufe auf quantitative Resistenz selektiert. Für 225 Sippen wurde in mittleres bis gutes Niveau quantitativer Resistenz bestimmt, was im Jahr 1995 durch weitere Feldversuche zu bestätigen ist.

Die im Keimpflanzentest als resistent ermittelten Sippen wurden mit der anfälligen Sommergerstensippe 'L 94' gekreuzt, um Aussagen zur Vererbung der Resistenz treffen zu können.

Zur Beschreibung der qualitativen Resistenz der Prüfmuster ist ebenfalls ein Nachweis bereits überwindener Resistenzgene notwendig. Aus diesem Grund wurden aus der Pathogenbank des Institutes 224 Isolate des Erregers *Puccinia hordei* hinsichtlich ihrer Virulenzeigenschaften auf dem Testsortiment überprüft. Die Auswahl der Isolate für die Resistenzüberprüfung der Sippen erfolgt über eine Charakterisierung der verwandschaftlichen Beziehungen der Rostisolate mittels einer numerischen Taxonomie.

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben
070

3.5. Selektion von resistentem Ausgangsmaterial bei der Wirt/Pathogen-Kombination Weizen/*Puccinia striiformis* - Selection for resistant material in the host/pathogen combination wheat/*Puccinia striiformis*
Walther, U.

Prüfung genetischer Ressourcen im Versuchsfeld und im Gewächshaus, Entwicklung von Selektionsmethoden, Bereitstellung definierten Ausgangsmaterials sowie definierten Basismaterials für mehrortige Prüfungen 1995 in einem Projekt GFP/BAZ

Zur Selektion wurde die F₄-Generation aus Kombinationen von in der Züchtung bisher wenig genutzter vertikaler Gelbrostresistenz mit "slow-rusting"-Resistenz aus Wildweizen im Feld angebaut. Es wurde mit einem Gemisch aus derzeit in Deutschland aktuellen Gelbrostisolaten künstlich infiziert. Aus 19 Kombinationen der Linien ('Alcedo' x *Triticum diccoides* G 25) x 'Alcedo'⁵, ('Alcedo' x *Triticum spelta album*) x 'Alcedo'⁵ sowie der Sorten 'Compair' und 'Moro' (alle vertikale Resistenz) mit 7 Wildweizensippen mit "slow-rusting"-Resistenz wurden 750 Stämme bzw. Einzelpflanzenlinien selektiert. Das Saatgut wurde zur mehrortigen Prüfung zur Kooperation mit den Getreidezüchtern in einem 1995 beginnenden Projekt BAZ/GFP zur Verfügung gestellt. Ziel der Prüfungen an verschiedenen Versuchsstandorten in Regionen mit z. T. sehr unterschiedlichen Umweltbedingungen ist es, Aussagen zur Stabilität der Resistenz zu machen. In einer Reihe der genannten Versuchsorte wird ebenfalls bei künstlicher Infektion geprüft. (BAZ-2307)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; GFP, AG Getreide
071

3.6. Untersuchungen zur Virulenzanalyse und Selektion resistenten Ausgangsmaterials bei der Wirt/Pathogen-Kombination Weizen/*Puccinia recondita* - Analysis of virulences and selection for resistant material in the host/pathogen combination wheat/*Puccinia recondita*
Walther, U.

Aussagen zur Entwicklung der Pilzpopulationen, Virulenzbestimmung, Bereitstellung aktueller Virulenzen zur Evaluierung genetischer Ressourcen und für weitere Nutzer, Selektion definierten Ausgangsmaterials, Entwicklung von Selektionsmethoden

Bei Untersuchungen von 36 Braunrostpopulationen (*Puccinia recondita*) aus 14 verschiedenen Züchtungseinrichtungen wurden Virulenzgene für folgende Resistenzgene bestimmt:

- In allen Herkünften: Lr2d, Lr10, Lr11, Lr14a, Lr14b, Lr15, Lr18, Lr21, Lr28, Lr30, Lr34, 'Salzmünder Bartweizen'.
- In der Mehrzahl der Herkünfte: Lr2b, Lr3, Lr3bg, Lr3ka, Lr16 und Lr17, und 'Weique'.
- In der Mehrzahl der Herkünfte, aber mit mäßigem Anteil: Lr23 und Lr29+Lr30.
- In wenigen Herkünften: Lr2a und Lr2c.

Die Resistenzgene Lr1 und Lr9 blieben voll wirksam, für Lr19 wurde in 3 Populationen aus Böhnshausen, Ebersberg und Grünbach (letztere beide Raum München) eine kompatible Virulenz bestimmt. Hierzu sind weitere Untersuchungen notwendig.

Im Jahr 1994 wurde mit einer Vorvermehrung eines Weizensortimentes und mit ersten Keimpflanzenprüfungen begonnen. (BAZ-2307)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; GFP, AG Getreide

072

3.7. Charakterisierung der Resistenz im Rahmen der Wertprüfung des Bundessortenamtes für die Wirt/Pathogen-Kombinationen Winter- und Sommergerste/*Puccinia hordei* sowie Winter- und Sommerweizen/*Puccinia recondita* - Characterization 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 der vertikalen und partiellen Resistenz, Aussagen zu Resistenzgenen und zum Resistenztyp (Seedling- oder adult-plant-resistance), Erprobung neuer Boniturmethode zur Erfassung epidemiologisch bedeutender Sortenmerkmale

Es wurden 116 Wintergersten und 75 Sommergersten im Keimpflanzenstadium mit 6 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 Pa1 und Pa2 bestimmt. Diese Gene sind für die meisten Pathogenisolate nicht effektiv. Im Versuchsfeld war durch die witterungsbedingte relativ späte Infektion der Befallsdruck nicht so hoch wie 1993. Die Mehrzahl der Sorten und Linien (85) zeigte ein mittleres bis mäßiges Resistenzniveau und war signifikant besser als die Vergleichssorte 'Vogelsanger Gold'; zwei Stämme reagierten signifikant besser im Vergleich zum Sortimentsmittel.

In den Sommergerstensorten wurden ebenfalls in einigen Sorten die Gene Pa1 und Pa2 bestimmt. Für eine große Anzahl Prüfmuster wurden die Resistenzgene 'Trumpf', Pa3 und die Kombination beider Gene ermittelt. Im Feldversuch war ein Drittel der Prüfmuster signifikant schlechter als der Standard 'Vada'. Für eine Reihe von Neuzüchtungen konnte ein signifikant besseres Resistenzniveau als das Sortimentsmittel nachgewiesen werden.

Auf Braunrostresistenz wurden 126 Muster Winterweizen, 27 Sommerweizen und 16 Triticale getestet. Analog zur Gerste erfolgte die Keimpflanzenprüfung mit 6 definierten Isolaten unter kontrollierten Bedingungen und die Feldprüfung bei künstlicher Infektion. Bei Winterweizen wurden neben Stämmen mit wirksamer vertikaler Resistenz 6 Linien mit "adult-plant-resistance" ermittelt. Diese Linien sind bei völliger Anfälligkeit im Keimpflanzenstadium für alle zur Prüfung genutzten Isolate im Feld als erwachsene Pflanze befallsfrei. Für 39 Sorten oder Linien wurde Feldresistenz festgestellt. Im Gegensatz zur "adult-plant-resistance" wurde hier bei gleicher Keimpflanzenanfälligkeit im Feld ein leichter bis mittlerer Befall beobachtet.

Die geprüften Sommerweizen waren mit Ausnahme der Sorten 'Planet', 'Nandu' und eines Stammes hochanfällig. Bei Triticale wurde nur auf 'Lasko' und 'Lucas' leichter Befall beobachtet. Hierzu muß bemerkt werden, daß die Feldinfektion 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. (BAZ-2319)

In Zusammenarbeit mit: Bartels, BBA, Braunschweig; Bundessortenamt, Hannover

073

3.8. 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.

Isolatecharakterisierung und Aufbau eines Testsortimentes; Verbesserung und Neuentwicklung von Selektionsmethoden; Screening in Kultur- und Wildpflanzensortimenten mit definierten Erregerisolaten zur Auffindung von Resistenzquellen gegen die Netzfleckenkrankheit

Dreijährige Erfahrungen mit der Wirt-Erreger-Kombination Gerste/*Drechslera teres* haben gezeigt, daß es bei fehlendem natürlichen Infektionsdruck im Frühjahr äußerst schwierig ist, durch eine künstliche Infektion gute Voraussetzungen für eine Resistenzprüfung zu schaffen. 1993 wurde ein "Sommerversuch" unter methodischen Aspekten durchgeführt, der in diesem Jahr als einfaktorielle Blockanlage mit 100 Prüfgliedern in 4 Wiederholungen angelegt wurde. Infizierte Blatt- und Halmstücke wurden vor der Aussaat (1.8.1994) eingemulcht. Die Resistenzbewertung erfolgte anhand des prozentualen Befalls der Blattfläche. Aus den Befallswerten von 6 Boniturterminen wurden die Fläche unter der Befallsverlaufskurve (Wilcoxon 1979) und der mittlere Befall ermittelt. Aus der Varianzanalyse ergab sich ein signifikanter Einfluß der Sorten auf den Befall. Beide Versuchsjahre zeigen, daß diese Methode zur quantitativen Beurteilung der Resistenz der Gerste gegen *D. teres* gute Voraussetzungen bietet; sie wird deshalb weiter erprobt.

Im Rahmen der Resistenzevaluierung konnten von insgesamt 380 geprüften Sippen der spec. *Hordeum spontaneum* 59 anhand der Symptombonitur als resistent gegenüber 4 *D. teres*-Isolaten im Blattsegmenttest selektiert werden. Der Auswahl der 4 Isolate für diese Prüfung ging eine Bewertung der Virulenz von 15 Isolaten auf dem Testsortiment voraus. Die 59 Sippen *H. spontaneum* wurden zur Saatgutvermehrung für weitere Untersuchungen angebaut. Mit den unter Freilandbedingungen gewachsenen 2. und 3. Blättern ist ein weiterer Labortest mit einem Isolatengemisch durchgeführt worden. Die 10 besten Genotypen wurden daraufhin im "Sommerversuch 94" getestet und haben ihre sehr gute Resistenz bestätigt. Erste Kreuzungen der selektierten Genotypen mit 'Krona' sowie 'Karat' und reziprok wurden durchgeführt.

Eine Laborpüfung der selektierten Genotypen mit weiteren Isolaten aus verschiedenen geographischen Regionen soll angeschlossen werden, um eine rassenspezifische

Selektion auszuschließen.

Die dazu begonnene Charakterisierung der *D. teres*-Isolate wird fortgesetzt. Unter anderem wurde die Möglichkeit geprüft, die in vivo (Blattsegmenttest) ermittelte Zellulase- und Xylanaseaktivität zur Charakterisierung der Isolate heranzuziehen. Die Isolateuntersuchungen wurden mit drei Spot-Typen und drei Netz-Typen durchgeführt. Ihre Aggressivität ist zunächst im biologischen Test auf der Sommergerstensorte 'Karat' anhand der Befallsstärke ermittelt worden. Es konnte eine enge Beziehung zwischen der Enzymaktivität und der Befallsstärke bei den geprüften Isolaten festgestellt werden. Bei den Spot-Typ-Isolaten hat sich gezeigt, daß die Enzymproduktion der aggressiven Isolate erst zu einem späteren Zeitpunkt (14 d p.i.) ihr Maximum erreicht.

Ein Sortiment selektierter Gerstengenotypen unterschiedlicher Anfälligkeit wurde anhand inokulierter Blattsegmente und unter Freilandbedingungen infizierter Blattproben analysiert. Hinsichtlich der bonitierten Befallsstärke und der Xylanase- und Zellulaseaktivität ergab sich eine sehr gute Korrelation (Abb. 1).

Aus den bisherigen Untersuchungen kann geschlußfolgert werden, daß die Bestimmung extrazellulärer Enzymaktivitäten des Pathogens in befallenen Blattproben eine objektive Resistenzbewertung von Genotypen gestattet. Es konnte ebenfalls nachgewiesen werden, daß eine Resistenzbewertung anhand der Enzymaktivität nicht primär von standardisierten Bedingungen abhängig ist, sondern auch mit Material unterschiedlicher Entwicklungsphasen sowohl der Wirtspflanze als auch des Pathogens möglich ist.

Durch die vielfältige Symptomausprägung des Netzflekenerreger kann es zur Verwechslung mit den unter Freilandbedingungen häufig auftretenden unspezifischen Blattflecken kommen. Die Anfälligkeit einer Sorte könnte überbewertet werden. Die Möglichkeit, mit Hilfe ermittelter Enzymaktivitäten physiologische bzw. genetisch bedingte Blattflecken von den durch Pathogenbefall hervorgerufenen Symptomen zu differenzieren, wurde

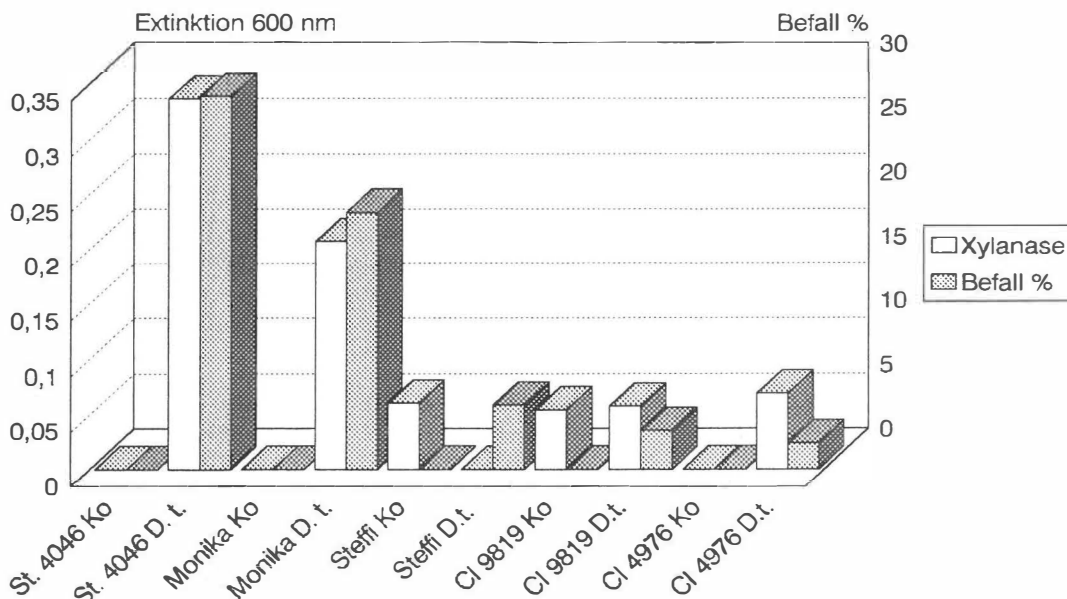


Abb. 1: Xylanaseaktivität verschiedener Gerstengenotypen 6 d nach der Infektion mit *D. teres* (Blattsegmenttest)
Ko- Kontrolle D. t.- *Drechslera teres*

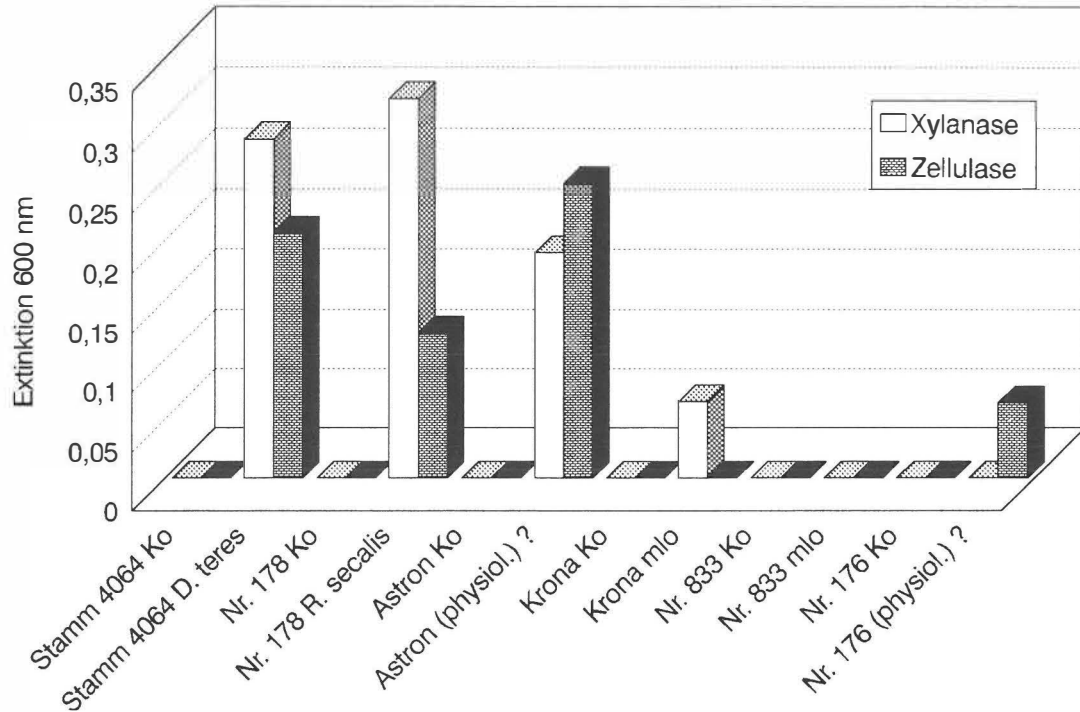


Abb. 2: Enzymaktivitäten in Blattproben aus dem Freiland

geprüft.

Für diese diagnostischen Untersuchungen wurden aus den verschiedenen institutseigenen Getreidesortenversuchen in Aschersleben befallene Pflanzen entnommen. Nach einer Sichtbonitur wurde versucht, die unterschiedlichen Symptome bestimmten Krankheitserregern bzw. physiologischen Ursachen zuzuordnen. In den Blattproben, deren Nekrosen nach Sichtbonitur eindeutig den Pathogenen *D.teris* und *Rhynchosporium secalis* zuzuordnen waren, konnten stets hohe Zellulase- und Xylanaseaktivitäten gemessen werden (Abb. 2).

Die analysierten Blattflecken der Sorte 'Krona' sowie der Zuchtstämme 833 und 176 zeigten keine bzw. nur eine sehr geringe Enzymaktivität, was auf physiologische oder genetische Ursachen schließen läßt. Die Problematik wird weiter untersucht. (BAZ - 2304)

In Zusammenarbeit mit: Nachtigall, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben; Wolf, Univ. Göttingen
074

Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz

Das Institut für Obstzüchtung hat die Aufgabe, Basismaterial für die Entwicklung von Baumobst- und Beerenobstsorten mit hoher Resistenz gegen Schaderreger, hoher Toleranz gegen abiotische Streßfaktoren und hoher Produktqualität zu erstellen. Es werden die Kulturen Apfel, Erdbeere, Himbeere, Sauer- und Süßkirsche bearbeitet.

1. Züchtung

1.1. Erstellung von resistentem Basismaterial bei Erdbeere mit Resistenz gegen *Phytophthora fragariae* Hickman, *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet., *Verticillium albo-atrum* Reinke u. Berthold, *Verticillium dahliae* Kleb. sowie mit hoher Fruchtqualität - Production of resistant basic material of strawberry with resistance to *Phytophthora fragariae* Hickman, *Phytophthora cactorum* (Leb. & Cohn) Schroet., *Verticillium albo-atrum* Reinke u. Berthold, *Verticillium dahliae* Kleb. and with high fruit quality

Dathe, B.

Ziel ist die Herstellung resistenten Basismaterials mit zunächst einfacher, späterhin kombinierter Resistenz gegen die Bodenpilze *Phytophthora fragariae*, *Phytophthora cactorum* und *Verticillium albo-atrum* bzw. *V. dahliae* als Ausgangsmaterial für die Sortenzüchtung. Da die in den Jahren 1992/93 selektierten Resistenzträger (Sorten) nur geringwertige Fruchtqualitäten aufweisen können, kommt der Verbesserung der Fruchtqualität eine große Bedeutung zu.

Es wurden 8 Kreuzungen (insgesamt 8800 Samen) zur *Verticillium*-Resistenzzüchtung hergestellt. Als Elternsorten fanden Sorten mit *Verticillium*-Toleranz bzw. -Resistenz und qualitativ hochwertige, aber gegen *Verticillium* anfällige Sorten Verwendung. Mit 5 qualitativ guten *P. fragariae*-resistenten Zuchtklonen aus der Kreuzungsnachkommenschaft 'Surecrop' x 'Honeoye' wurden Rückkreuzungen mit dem Kreuzungspartner 'Honeoye' (2150 Samen) durchgeführt.

Das Erdbeersortiment konnte durch 16 alte Sorten, die möglicherweise Resistenzen gegen *Verticillium* besitzen, auf insgesamt 124 Sorten erweitert werden.

Erdbeersämlinge der Kreuzungsserie 1993 (*Verticillium*-Toleranz x *P. fragariae*-Resistenz) konnten nach Frühlingsaussaat 1994 bereits Anfang Mai ins Freiland ausgepflanzt werden (32 Kreuzungsnachkommenschaften mit insgesamt 2200 Sämlingen). Auf Grund der kräftigen Entwicklung der Jungpflanzen brachten die Sämlinge im Alter von 5 Monaten Ende Juni gute Erträge, so daß bereits zu diesem Zeitpunkt eine sensorische Einschätzung der Fruchtqualität sowie die Bestimmung der Zucker- und Säurewerte möglich war. Der bisher erstmals erprobte frühe Termin der Auspflanzung ins Freiland

führte - nach optimaler Anzucht im Gewächshaus und Abhärtung der Sämlinge im April - zu einer wesentlichen Beschleunigung der Selektion.

Von den im Jahre 1993 ins Freiland ausgepflanzten Sämlingen der diallelen Kreuzungsserie 1992 zur Untersuchung der Vererbung von *P. fragariae*-Resistenz und *Verticillium*-Resistenz (31 Nachkommenschaften mit insgesamt 2400 Sämlingen) wurden Zucker- und Säurewerte sowie der sensorische Wert der Früchte zur Untersuchung der korrelativen Beziehung zwischen Zucker/Säure und Geschmack der Früchte erfaßt.

Zahlreiche Versuche wurden zur Technik der *Verticillium*-Resistenztestung von sehr jungen Erdbeersämlingen unter kontrollierten Bedingungen im Gewächshaus durchgeführt. Geprüft wurden mehrere Inokulationsmethoden unter Verwendung 14 Tage alter Sämlinge (Auswaschen der Wurzeln und 24stündiges Eintauchen in eine Myzelsuspension von *Verticillium*, Einbringen des Myzels in das Erds substrat, Angießen der Sämlinge mit Myzelsuspension nach dem Pikieren). Das Ziel der Versuche, nach Inokulation der Sämlinge ein schnelles, für *Verticillium*-Befall typisches Welken der anfälligen Pflanzen zu erreichen und die toleranteren bzw. resistenten Sämlinge zerstörungsfrei selektieren zu können, war auch nach 7monatiger Versuchsdauer nicht möglich. Im Rhizom der inokulierten Pflanzen ließ sich in unterschiedlicher Häufigkeit je Nachkommenschaft *Verticillium* nachweisen. (BAZ-4103)

075

1.2. 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.

Züchtung neuer Apfelsorten mit dauerhafter Mehrfachresistenz gegen die Schaderreger Schorf, Mehltau, Feuerbrand, Bakterienbrand, Spinnmilbe; Kopplung dieser Resistenzen mit hoher Fruchtqualität; Herstellung neuer Donoren mit Mehrfachresistenz; Entwicklung von

Zuchtmaterial mit verschiedenen Schorffresistenzgenen; Prüfung der Stabilität und Vererbung der Resistenzen

1994 wurden insgesamt 62 Kreuzungsnachkommenschaften aus mehrfachresistenten Apfelsorten (Re-Sorten, ausländische Sorten, Zuchtstämme) und qualitativ hochwertigen Apfelsorten (Pi-Sorten, ausländische Sorten, Zuchtstämme) hergestellt. Kombiniert wurden verschiedene Resistenzen gegen Schorf

- Vf x Vf, Vf x Vr, Vf x VA, Vf x Vm, VA x Vm,
- (Vf x Vf) x Vm, (Vf x VA) x Vm,

sowie gegen Mehltau (PI 1, PI 2, polygen), gegen Feuerbrand (polygen), gegen die Obstbaumspinnmilbe.

Nach Aussaat von 18 Kreuzungsnachkommenschaften (2430 Sämlinge) wurden nach Frühselektion 43 % schorffresistente Pflanzen selektiert. Für die Entwicklung neuen Ausgangsmaterials mit kombinierter Schorf- und Mehltaresistenz sowie hoher Fruchtqualität wurden 9 Kreuzungsnachkommenschaften mit 990 Sämlingen in die Frühselektion gegenüber Mehltau in den Zuchtprozeß eingegliedert. Kreuzungsnachkommenschaften, deren beide Eltern einen hohen Resistenzgrad gegenüber der Obstbaumspinnmilbe besitzen, wurden auf dieses Resistenzmerkmal geprüft. Es deutet sich polygene Bedingtheit der Resistenz gegenüber der Obstbaumspinnmilbe an. Die Untersuchungen werden weitergeführt. In der Prüfung auf Feuerbrandresistenz wurden 9 Zuchtstämme, die gleichzeitig resistent gegen Schorf und Mehltau sind, mit einem hohen Resistenzgrad gegenüber Feuerbrand

selektiert. Die Evaluierung einer Population ergab mit 55 % resistenter Pflanzen einen hohen Resistenzgrad gegenüber Feuerbrand. Die Untersuchungen auf Bakterienbrand zeigten bei den geprüften Zuchtstämmen, die bereits Mehrfachresistenz gegen Schorf, Mehltau und Feuerbrand besitzen, einen mittleren Resistenzgrad. In Resistenzprüfungen von selektierten Zuchtstämmen gegenüber der Obstbaumspinnmilbe wurden 2 Zuchtstämme mit einer höheren Verträglichkeit, vergleichbar mit dem resistenten Standard 'Releika', ermittelt. Davon besitzt ein Zuchtstamm gleichzeitig Mehrfachresistenz gegenüber Schorf, Mehltau und Feuerbrand sowie eine gute Fruchtqualität. Dieser Zuchtstamm wurde in die Leistungsprüfungen eingegliedert. 1994 wurden eine Reihe mehrfachresistente Zuchtstämme für Leistungsprüfungen sowie für Versuche zur Stabilität der Schorf- und Mehltaresistenz okuliert. Die Prüfung der Stabilität der Resistenzen gegenüber den biotischen Schaderregern (Tab. 1) ergab für die im Anbau und in Prüfung befindlichen Re-Sorten^R dauerhafte Resistenz. Es wurden keine Abweichungen von den bisherigen langjährigen Ergebnissen festgestellt.

Die Auswertung eines zwölfjährigen Versuches mit den Re-Sorten^R 'Retina', 'Reanda', 'Resi', 'Releika' und 'Renora' sowie mit den Vergleichssorten 'Golden Delicious' und 'Prima' ergab nach 11 Ertragsjahren eine gute Ausprägung der obstbaulichen Merkmale: Ertrag jährlich gleichmäßig hoch wie die Standardsorte 'Golden Delicious', nur 'Retina' als Spätsommersorte ergab signifikant

Tab. 1: Multiple Resistenz im Pillnitzer Re-Sortiment

Re-Sorte ^R	Resistenz gegenüber							
	Schorf	Schorfesistenz- quelle	Mehltau	Feuerbrand	Bakterien- brand	Obstbaum- spinnmilbe	Blüten- frost	Winter- frost
REALKA	x	Vr	#	x	o	o	#	o
REANDA	x	Vf	x	x	o	#	x	o
REGLINDIS	x	VA	(x)	(x)	o	x		x
REKA	x	Vr	(x)	o	x	#	#	(x)
RELEIKA	x	Vf	o	(x)	x	x		
RELETA	x	Vr	#	o	x	x	o	o
RELINDA	x	Vf	(x)	o	x	#		
REMO	x	Vf	x	x	o	o	x	x
REMURA	x	Vr	x	o	o	(x)	o	x
RENE	x	Vf	o	x	(x)	#	x	o
RENORA	x	Vf	(x)	o	o	o	x	(x)
RESI	x	Vf	x	o	x	#		
RETINA	x	Vf	(x)	o	o	(x)	x	#
REWENA	x	Vf	x	x	x	o	x	o
Pi-AS-5,157	x	VAxVf	(x)	o	x	x		
Pi-AS-5,169	x	VAxVf	x	(x)	x	x		
Pi-AS-1,23	x	VrxVf	x	x				

x : resistent
 (x): schwach resistent
 o: mittel anfällig
 #: anfällig
 ohne: noch nicht untersucht

Vr = *Malus pumila*
 Vf = *Malus floribunda*
 VA = Antonowka

niedrigere Erträge. Die innere und äußere Fruchtqualität ist besser als die der Vergleichssorten 'Golden Delicious' und 'Prima' und im Vergleich mit 'Elstar' und 'Jonagold' gut. Die Leistungsprüfungen der übrigen, zum Sortenschutz angemeldeten Pi- und Re-Sorten sowie Zuchstämme zeigten übereinstimmend gute Ergebnisse, auch an verschiedenen Standorten (u.a. Wurzen, Müncheberg, Hohenheim, Weinsberg, Ahrweiler, Bavendorf). Die Virustestung ergab bei den 9 untersuchten Apfelsorten Virusfreiheit von den gegenwärtig bekannten und in Deutschland getesteten Virose- und Mykoplasmosen. (BAZ-4101)

In Zusammenarbeit mit: Richter, Habekuß, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben; Rapp, BAZ, Inst. f. Rebenzüchtung, Siebeldingen; Fischer, Büttner, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Gebhart, Wiedemann, LFL, Dresden; Treutter, TU München; Zeller, BBA, Dossenheim; Lespinasse, Parisi, INRA Angers, Frankreich; Kellerhals, EFA Wädenswil, Schweiz; Goddrie, Kemp, Prüfstation für Obst Wilhelminadorp, Niederlande; Bonn, Research Station Harrow, Ontario, Kanada; Aldwinckle, Burr, Cornell University, Geneva, USA; van der Zwet, Appalachian Fruit Research Station, Kearneysville, USA

074

1.3. Sauerkirschenzüchtung - Breeding of sour cherries

Wolfram, B.

Entwicklung von Sauerkirschen mit hoher Produktqualität und Resistenz gegen das Nekrotische Ringfleckenvirus sowie geringe Spätfrostempfindlichkeit

Ein 9jähriger Sauerkirschenversuch, Standort Kauscha, mit selektierten Zuchtklonen aus der 2. Kreuzungsserie sowie den Sorten 'Korund', 'Karneol' und den Vergleichssorten 'Vowi' und 'Schattenmorelle' wurde nach 7 Ertragsjahren

ausgewertet. Beurteilt wurden die Merkmale 'Blühstärke', 'Reifezeit', 'Fruchtbehang', 'spez. Ertrag in kg/m³ Kronenvolumen (KV)', 'Fruchtmasse', 'Stiellösbarkeit', 'Fertilität' und 'Krankheitsbefall (*Monilia*, Ausbreitung des Nekrotischen Ringfleckenvirus der Kirsche)'. Die Ergebnisse sind im Mittel der Jahre in nachfolgender Tabelle aufgeführt. Danach weisen 'Schattenmorelle' und 'Vowi' aufgrund ihrer Schwachwüchsigkeit die höchsten spezifischen Erträge auf, gefolgt von Pi-Sa 43,87 und Pi-Sa 6,38 ('Safir'), wobei Pi-Sa 43,87, ebenso Pi-Sa 2,40 wegen sehr schlechter Stiellösbarkeit - trotz ihrer Selbstfertilität - nicht für den Anbau empfohlen werden können. Die sehr früh reifende, wohlschmeckende, dunkelfarbige Pi-Sa 5,61 ist selbststeril und wenig ertragsicher; Pi-Sa 17,5, hellfrüchtig, wohlschmeckend, verkahlt übermäßig und ist ebenso wie 'Schattenmorelle' und 'Vowi' *Monilia*-anfällig. Obwohl die Neuzüchtungen 'Korund' (virusfrei), 'Karneol', 'Safir' und 'Topas' die Ertragsleistung der 'Schattenmorelle' nicht erreichen, sind sie wegen ihrer ansprechenden Fruchtqualität als Tafelkirschen und für Konserven besser geeignet als diese. Die sehr säurereiche 'Topas' sollte nur für die Verarbeitung zu Saft Verwendung finden.

Der geringste *Monilia*-Befall konnte bei 'Korund', 'Karneol' und 'Topas' beobachtet werden. Nach 10 Standjahren waren von den virusfreien Bäumen ca. 35 % mit dem Nekrotischen Ringfleckenvirus der Kirsche befallen. (BAZ-4102)

In Zusammenarbeit mit: Wiedemann, Sächs. Landesanstalt für Landwirtschaft, Dresden

077

1.4. Kirschenunterlagenzüchtung - Breeding of cherry rootstocks

Wolfram, B.

Züchtung von Schwachwuchs induzierenden Unterlagen

Tab. 1: Obstbauliche Ergebnisse eines Sauerkirschenklonversuches im Mittel der Jahre 1988-1994, Standort Kauscha

Sorten/Klone	Reifezeit	Fruchtbehang Bonitur 1-9	spez. Ertrag kg/m ³ KV	Fruchtmasse g	Stiel- lösbarkeit	Stammdurchm. cm 1994	Fertilität
Schattenmorelle	E Juli	7,1	2,9	4,8	gut	10,1	sf
Vowi	E Juli	7,3	2,3	4,5	gut	11,4	sf
Korund	A Juli	5,3	1,3	7,0	mittel	13,3	tsf
Karneol	E Juli	6,5	1,0	6,5	gut-mittel	15,3	tsf
Pi-Sa (Topas)	2,37 M Juli	6,3	1,3	6,6	mittel	16,1	tsf
Pi-Sa 6,38 (Safir)	M Juli	6,6	2,0	7,5	gut	13,2	sf
Pi-Sa 2,40	M Juli	7,1	1,7	7,7	schlecht	14,5	sf
Pi-Sa 5,61	A Juli	5,1	0,6	6,2	gut	16,9	st
Pi-Sa 17,5	M Juli	4,6	0,6	5,0	mittel	15,0	tsf
Pi-Sa 43,87	E Juli	7,1	2,1	4,7	schlecht	12,0	sf

A = Anfang

E = Ende

M = Mitte

Boniturnoten (1-9: 1 = schlecht, 9 = sehr gut)

sf = selbstfertil

st = selbststeril

tsf = teilselbstfertil

für Kirschen, die mit Sorten gut verträglich sind und Resistenz gegen *Valsa* und Winterfrost aufweisen

Die stark wachsenden Sauerkirschenneuzüchtungen 'Korund' und 'Karneol' wurden 1989/90 auf verschiedene Kirschenunterlagen gepfropft, um eine Beeinflussung der Unterlage hinsichtlich Wuchs und Fruchtmasse zu prüfen. Folgende Unterlagen wurden gewählt: *Prunus avium* (Sämling), *P. mahaleb*, 'Colt', Pi-KU 4,20, Pi-KU 4,22 und Pi-KU 4,83. Bei beiden Sorten waren nach 4-jähriger Bonitur die Werte für Fruchtbehang auf *P. avium* am höchsten. Es folgten Pi-KU 4,20, Pi-KU 4,83 und 'Colt'. Die mittlere Einzelfruchtmasse überzeugte auf Pi-KU 4,20 und *P. avium*. Die Unterschiede zu den übrigen Unterlagen waren gering. Die Wuchsverminderung der zwei Sorten im Vergleich zu *P. avium* war auf der Unterlage Pi-KU 4,20 am höchsten und betrug 35 bis 40 %.

Befruchtungsbiologische Untersuchungen mit dem Ziel der S-Allel-Identifizierung wurden begonnen. Die Auf- findung geeigneter Befruchtersorten für die Süßkirschenneuzüchtungen durch Kreuzbestäubung wurden fortgesetzt. (BAZ-4108)

In Zusammenarbeit mit: Richter, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben; Wiedemann, Sächs. Landesanstalt für Landwirtschaft, Dresden; Mittelstädt, Univ. Potsdam, FB Biologie

078

2. Biotechnologie

2.1. Entwicklung von Methoden zur Etablierung von Protoplastenkulturen bei verschiedenen *Prunus*-Arten und -Genotypen - Development of methods to establish protoplast culture of different *Prunus* species and genotypes

Hanke, V.

Protoplasten stellen ein vielseitig verwendbares In-vitro-System zur Bereitstellung von züchterischem Ausgangsmaterial dar. Die Regeneration von intakten fertilen Pflanzen aus dem Protoplastensystem ist jedoch die Voraussetzung für die weitere Nutzung der Regenerate im Zuchtprozeß. Die Etablierung von vitalen Protoplastenkulturen ist der erste Schritt zur Erzeugung von somatischen Hybriden über Protoplastenfusion.

Berichte über die Isolation und Kultur von Protoplasten sowie deren Regeneration zu Pflanzen bei *Prunus avium* und *Prunus cerasus* beziehen sich auf eine sehr geringe Anzahl von Genotypen. Für die Einbeziehung von Genotypen in Zuchtprogramme wäre es von Bedeutung, wenn Methoden für ein möglichst breites Spektrum an Genotypen erstellt werden könnten.

Im Berichtsjahr wurden bei den Süßkirschenorten 'Van', 'Sparkle', 'Burlat', 'Vinka', 'Stella' und 'Na 45', sowie dem Sauerkirschenunterlagenklon Pi-KU-4,83 erste Versuche zur Isolation und Kultur von Protoplasten aus Mesophyllgewebe axenischer Sproßspitzenkulturen durchgeführt. Hauptschwerpunkte waren die Auswahl und Testung von Enzymgemischen für die Freisetzung von Protoplasten sowie die Variation physikalischer Bedingungen bei der Kultur der Spenderpflanzen. Vorausset-

zung für eine ausreichend gute Ausbeute an Protoplasten ist die Anzucht der Spenderpflanzen im Dunkeln vor der Isolation. Für die enzymatische Verdauung des Blattmaterials mit vollständiger Auflösung des Zellverbandes und der Zellwände eigneten sich am besten Enzymgemische mit 1,5 bis 2 % Cellulase R-10 und 0,2 bis 0,5 % Macerozyme R-10, wobei PVP als antioxidierend wirkender Zusatz gewählt wurde. Die erreichbaren Ausbeuten an Protoplasten lagen in Abhängigkeit vom Genotyp und Enzymgemisch bei 3,5 bis $11,1 \times 10^6$ Protoplasten/g Fruchtmasse und einer Vitalität der Protoplasten nach der Isolation von 50 bis 95 %. Die Verwendung von Pectolyase anstelle von Macerozyme wirkte sich negativ auf die Vitalität der Protoplasten aus. Bei Einbettung der Protoplasten in Alginat konnten nach 14-tägiger Kultur Zellteilungen bei 9 zeatinhaltigen Nährmedien beobachtet werden. Die Etablierung von Kalluskulturen konnte bisher nicht erreicht werden. (BAZ-4112)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, IPK, Genbank Obst, Dresden-Pillnitz; Ochatt, Patat-Ochatt, INRA Angers, Frankreich

079

2.2. Entwicklung von Methoden zur Etablierung von Protoplastenkulturen bei verschiedenen *Malus*-Arten und -Genotypen - Development of methods to establish protoplast cultures of different *Malus* species and genotypes

Hanke, V.

Protoplastenkulturen stellen ein vielseitig verwendbares In-vitro-System zur Bereitstellung von züchterischem Ausgangsmaterial dar. Die Regeneration von intakten fertilen Pflanzen aus dem Protoplastensystem ist jedoch die Voraussetzung für die weitere Nutzung der Regenerate im Zuchtprozeß. Die Etablierung von vitalen Protoplastenkulturen ist der erste Schritt zur Erzeugung von somatischen Hybriden über Protoplastenfusion.

Im Berichtsjahr wurde die Protoplastierbarkeit eines breiten Spektrums von 15 züchterisch relevanten Apfelsorten, Apfelunterlagen und Apfelwildarten geprüft. Verwendet wurde als Ausgangsmaterial für die Isolation Mesophyllgewebe von axenischen Sproßspitzenkulturen; erste Ansätze erfolgten auch mit Kalluskulturen aus der Antherenkultur und Hypokotylexplantaten von gekeimten Samen aus freier Abblüte. Durch Variation zahlreicher Kulturbedingungen (Temperatur, Licht), der Protoplastenisolationsbedingungen (Enzymgemische, Inkubationszeiten) und der Nährmedienzusammensetzungen für die Protoplastenkultur konnten weitere Voraussetzungen für ein zu etablierendes Regenerationssystem geschaffen werden. Auf der Grundlage von Voruntersuchungen erfolgte die Anzucht der Spenderpflanzen vor der Protoplastenisolation im Dunkeln, da mittlere und intensive Belichtung die Freisetzung der Protoplasten stark hemmte. Eine Kühlbehandlung hatte keinen fördernden Effekt. Von den geprüften Apfelunterlagen erwiesen sich die Klone Pi-AU 51-11 und Pi-AU 56-83, beide mittelstark wachsend, bei Ausbeuten um 4×10^6 Protoplasten/g FM gegenüber den schwachwachsenden Klonen als geeigneter für eine Protoplastierung. Bei den geprüf-

ten Apfelsorten konnten im Vergleich zu den Unterlagen durchschnittlich bessere Ausbeuten erreicht werden, wobei die Sorten 'Releta', 'Pinova' und 'Gala' besonders geeignet waren. Von den Wildarten ließen sich gut *Malus hupehensis* und *Malus baccata* protoplastieren, wobei die Ausbeuten durchschnittlich über denen der Unterlagen und Sorten lagen. Die Plattierung der gewonnenen Suspensionen erfolgte in Na-Alginat mit Dichten von bis 2×10^5 Protoplasten/ml. Nach 14tägiger Kulturdauer wurden Zellteilungen auf MS- und KM-Medien unterschiedlicher Hormonzusammensetzung erzielt. Eine Pflanzenregeneration gelang bisher noch nicht. Die Protoplastensuspensionen wurden im Vergleich zu den für die Isolation verwendeten Spenderpflanzen einer DNA-Analyse mittels Durchflußcytometrie unterzogen. (BAZ-4114)

In Zusammenarbeit mit: Huancaruna-Perales, FU Berlin; Ochatt, Patat-Ochatt, INRA Angers, Frankreich

080

2.3. 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 ist die Erstellung von Ausgangsmaterial für die Apfelzüchtung durch Etablierung eines effizienten Regenerationssystems an Kotyledonen und die Anwendung einer einfachen Methode der Bewertung von in vitro erzeugten Sproßkulturen bezüglich ihrer Anfälligkeit gegenüber Podosphaera leucotricha (Ell. et Ev.) Salm.

Für die Untersuchungen wurden Samen aus 5 Kreuzungspopulationen bei Verwendung von 'Pinova' als Mutter und Bestäubersorten unterschiedlicher Anfälligkeit bzw. Resistenz gegen Schorf und Mehltau verwendet. Die Entnahme der Kotyledonen erfolgte aus unreifen Früchten zu einem frühen Zeitpunkt der Embryoentwicklung. An allen 584 aufgelegten Explantaten wurde zunächst Kallus induziert, der in Abhängigkeit von Genotyp und Medium multiple Sproßbüschel bildete, aus denen sich in unterschiedlichem Maße gestreckte Einzelsprosse entwickelten. Geprüft wurde die Regenerationsfähigkeit auf 4 Induktionsmedien, von denen drei TDZ und ein Medium BAP enthielten. Durch die Verwendung von TDZ konnte der Anteil regenerierender Explantate im Vergleich zu BAP von 17 % auf durchschnittlich 76 % erhöht werden. Die Bildung von Adventivsprossen an den aufgelegten Kotyledonen war mit 42 bis 64 % regenerierenden Explantaten bei den einzelnen Populationen von der verwendeten Bestäubersorte abhängig. Nach der 8. Kulturwoche konnten in Abhängigkeit von der Kreuzungskombination durchschnittlich 1,2 bis 2,8 Sprosse an den regenerationsfähigen Explantaten geerntet werden. Das morphogene Potential der Explantate bleibt auch nach der 8. Kulturwoche erhalten. Eine Abhängigkeit der Regenerationsfähigkeit vom ver-

wendeten Explantat (Kotyledonen im ganzen oder Kotyledonen längs halbiert) konnte nicht festgestellt werden. Insgesamt wurden 407 verklonbare Sprosse gewonnen, die auf ihre Anfälligkeit gegenüber Apfelmehltau zu untersuchen sind. Die Verwendung von ausgereiften Embryonen nach Beendigung der Fruchtreife führte unter den beschriebenen Versuchsbedingungen nach 8wöchiger Kultur bei 33 % der Explantate zur Induktion lediglich winziger multipler Sproßgebilde und ist daher nicht als alternative Methode zu betrachten.

Gleichzeitig wurden Untersuchungen zur Induktion adventiver Embryonen an Kotyledonen bei Verwendung von nicht ausgereiften Samen der Sorte 'Pinova' aus freier Abblüte durchgeführt. Erfolgreich wurde ein Medium mit NAA verwendet, das bei 42 % der aufgelegten Explantate Embryonen induzierte. Eine Weiterkultur der Embryonen konnte bisher lediglich via Kalluskultur und Adventivsproßbildung erreicht werden.

Aus Voruntersuchungen zur Kotyledonenkultur bei Apfel im Jahre 1993 konnten, von 2 Kreuzungskombinationen stammend, 166 Regenerate gewonnen werden, von denen lediglich 28 erfolgreich kultiviert und verklont wurden. Letztere wurden in Untersuchungen zum endogenen Polyaminhaushalt (siehe auch BAZ-4118) einbezogen. Gleichzeitig wurde an diesem Material eine Bewertung der Populationen auf Anfälligkeit gegenüber Apfelmehltau bei Verwendung des entwickelten In-vitro-Screening-Verfahrens durchgeführt. Es zeigte sich eine reproduzierbare Variabilität der Genotypen in diesem Merkmal von stark anfällig bis resistent.

Die Anfälligkeit des Materials gegenüber Apfelmehltau wird anschließend mit einer Testung unter Gewächshausbedingungen verglichen. (BAZ - 4120)

081

2.4. Untersuchungen an *Podosphaera leucotricha* (Ell. et Ev.) Salm. besonders hinsichtlich der Rassenproblematik und Entwicklung einer Methode zur Frühselektion von In-vitro-Sprossen auf Resistenz gegen den Apfelmehltau - Investigations of *Podosphaera leucotricha* (Ell. et Ev.) Salm. with special regard to the problems of races and the development of a preselection method for apple mildew resistance in vitro

Hanke, V.; Kriehoff, O.

Ziel der Untersuchungen ist die Differenzierung möglicher Rassen von Podosphaera leucotricha sowie die Prüfung von Anfälligkeitsunterschieden an Malus-Genotypen in der In-vitro-Kultur gegenüber dem Schaderreger.

Die abschließenden Untersuchungen im Zusammenhang mit der Entwicklung einer Selektionsmethode brachten folgende Ergebnisse:

Es konnte eine Abhängigkeit der Entwicklung des Erregers von der Insertion des für die Infektion verwendeten Blattes am In-vitro-Sproß nachgewiesen werden. Für die Infektion und Selektion wurden daher zwei entfaltete, terminale Blätter des In-vitro-Sprosses verwendet.

Zur Sicherung der Reproduzierbarkeit der Ergebnisse wurden jeweils 10 gleichaltrige, terminale In-vitro-

Blätter der Sorten 'Pinova' und 'Jonagold' inokuliert und nach viertägiger Inkubation entsprechend der im vergangenen Jahr entwickelten Selektionsmethode ausgewertet. Zwischen den 10 Wiederholungen einer Sorte lag Homogenität vor, so daß die Selektionsmethode wiederholbare Ergebnisse zur Anfälligkeit einzelner Genotypen liefern kann.

Im Berichtszeitraum wurden des weiteren Versuche zur Erfassung von Virulenzunterschieden des Erregers in vitro durchgeführt. Als Differentialwirte wurden 5 *Malus*-Genotypen ausgewählt, von denen *M. zumi calocarpa*, *M. robusta*, *M. micromalus*, *M. hupehensis* resistente Wildarten darstellen und *M. 'Gibbs Golden Gage'* ein stark anfälliger Genotyp ist. Als Inokulum dienten 6 Einsporlinien, die von unterschiedlichen Standorten (Angers, Kiew, Aschersleben, Ahrensburg, Dresden-Pillnitz (Wildartensortiment), Dresden-Pillnitz (Kultursortiment)) gewonnen und in vitro als axenische Kultur vermehrt wurden.

Die fünftägige Inkubation der In-vitro-Blätter erfolgte in zwölffelligen Gewebekulturplatten bei ca. 1000 lx und einer Photoperiode von 16 h. Die Bonitur der Anfälligkeit der einzelnen Blätter erfolgte anhand einer vierteiligen Boniturskala. Diese Methode ist geeignet, unterschiedliche Aggressivität von Erregerisolaten zu belegen. Somit ist erstmalig der Nachweis erbracht worden, daß es unterschiedliche Virulenzgene und damit verbunden auch unterschiedliche Resistenzgene gibt. (BAZ-4115)

082

2.5. Adventivspößbildung an Kotyledonen bei Süßkirschpopulationen 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 ist die Erstellung von polyploidisiertem Ausgangsmaterial mittels Kotyledonenkultur in vitro zur Nutzung der Regeneratpflanzen in der Kirschenzüchtung.

In die Untersuchungen wurden 15 Kreuzungsnachkommenschaften mit den Muttersorten 'Van', 'Sunburst', 'Lapins' und 'Büttners' sowie den Bestäubersorten 'Sunburst', 'Lapins', 'Van' und 'Kassins' einbezogen. Die Präparation der Kotyledonen erfolgte aus Samen reifer Früchte. Durch Verwendung eines TDZ-haltigen Induktionsmediums, das mit gutem Erfolg bei Apfel für die Adventivspößbildung an Blatexplantaten angewendet wird (HANKE et al. 1991), konnte die Regenerationsfähigkeit der Explantate im Vergleich zu einem für die Adventivspößbildung an Kotyledonen bei Kirsche angegebenen Medium nach SCHMIDT und KARDELMEISNER (1992), das auf der Verwendung von BAP basiert, von 4 % auf 22 % erhöht werden.

Die Fähigkeit zur Regeneration von Adventivsprossen an den 1920 aufgelegten Explantaten war muttersortenabhängig und lag zwischen 7 % ('Büttners') und 17 % ('Sunburst' und 'Lapins'). An den regenerierenden Explantaten konnten durchschnittlich lediglich 0,2 bis 1,0 Sproß entsprechend beerntet und weiter kultiviert werden, da eine Sproßstreckung ausblieb.

Die Kolchizinierung wurde an Kotyledonen nach der Etablierung unter Zugabe von 50 mg/l Kolchizin in den Nährboden durchgeführt, was eine Verringerung der Sproßinduktionsrate von 15 % auf 7 % im Vergleich zur Normalkultur zur Folge hatte. Weiterhin wurden Regeneratsprosse in einem Flüssigmedium mit 0,1 % Kolchizin inkubiert, die Überlebensrate betrug 74 %. Eine Bewertung der kolchizinierten Regenerate bezüglich Morphologie und Ploidie steht noch aus. Insgesamt konnten 180 Genotypen gewonnen werden, die entsprechend in den Zuchtprozeß einzugliedern sind. (BAZ-4119)

083

2.6. Erzeugung von Haploiden durch Antherenkultur bei *Malus* - Induction of haploids in *Malus* by anther culture

Höfer, M.

*Der Einsatz von haploidem bzw. homozygotem Ausgangsmaterial kann insbesondere bei Obstgehölzen mit langen Generationszyklen zu einer Intensivierung des Züchtungsverlaufes führen sowie neue Möglichkeiten für die Analyse des Karyotyps und der genetischen Manipulation eröffnen. Ziel ist die Erzeugung von haploiden bzw. homozygoten Pflanzen bei *Malus*.*

Zur Verbesserung der Embryoidinduktion an Antheren wurden verschiedene Kälte- bzw. Wärme-Vorbehandlungen sowohl an Knospen als auch Antheren getestet. Der im Vorjahr nachgewiesene genotypabhängige Einfluß der genannten physikalischen Bedingungen konnte durch die Erweiterung des Genotypspektrums bestätigt werden. Es existieren 3 Reaktionsgruppen:

1. Genotypen, die bei Kühlung der Knospen von 1 bis 2 Wochen (4 °C) eine starke Abnahme der androgenen Potenz zeigen - hemmend,
2. Genotypen, die erst bei 2 Wochen Kühlung mit Verringerung reagieren - tolerierend,
3. Genotypen, die bei Kühlung von 1 bis 2 Wochen ein Ansteigen der Embryoidinduktion aufweisen - fördernd.

Antreibverfahren von Winterreisern bei Zimmertemperatur sowie 16 °C/12 h und 12 °C/12 h besitzen ebenfalls genotypspezifischen Einfluß auf den Anteil von embryogenen Antheren. Eine Wärmeverhandlung der präparierten Antheren von 34 °C für einen Tag zeigte im Vergleich zur Kontrolle ausschließlich bei Verwendung von Knospen von vorgetriebenen Reisern einen genotypabhängigen fördernden Effekt, während sich diese Vorbehandlung an Freilandmaterial für alle getesteten Genotypen negativ auf die Embryoidinduktion auswirkte. Die Untersuchung der Antherenkulturtauglichkeit von Kreuzungsnachkommenschaften von 'Alkmene', der Sorte mit dem größten Reaktionsvermögen, zeigte in ersten Versuchen eine höhere Embryoidinduktion bei Klonen, in denen 'Alkmene' als Mutter vorliegt. Nach erfolgreicher Sproßregeneration an induzierten Embryoiden sowie anschließender Proliferation wurden Versuche zur Verbesserung der Bewurzelung durchgeführt. In Abhängigkeit vom Ploidiegrad der zu bewurzelnden Einzelsprosse wurde eine erste Mediumoptimierung erreicht. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt befinden sich diploide, triploide

sowie tetraploide Pflanzen, erzeugt über den Weg der Antherenkultur, im Gewächshaus und stehen teilweise für erste Veredlungen bereit. Im Berichtsjahr erfolgte die Adaptation der Methode der Durchflußcytometrie unter Verwendung von Material unterschiedlicher Entwicklungsstadien aus der Antherenkultur. Eine darauf aufbauende Analyse der Verteilung der einzelnen Ploidiegrade im Ergebnis der Antherenkultur zeigte einen starken Genotypeinfluß. Anschließende Isoenzymanalysen der vorliegenden Regenerate belegen für alle die Homozygotie. (BAZ-4109)

In Zusammenarbeit mit: Keulemans, Fruitteeltcentrum K.U. Leuven, Belgien; Lespinasse, INRA Angers, Frankreich

084

2.7. 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, 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.

Im Berichtszeitraum lag ein Schwerpunkt der Arbeiten in der Untersuchung des Einflusses der Bestrahlung auf die Ausbildung des Fruchtansatzes sowie die Entwicklung von Samen und Embryonen. Für einen Jahresvergleich wurden auf Grund von stark differenzierenden Fruchtansätzen in den 2 Versuchsjahren die Differenzen zur Kontrolle ohne Bestrahlung für alle Parameter ermittelt. Der generell beobachtete starke Abfall des Fruchtansatzes in den Bestrahlungsvarianten differiert in Abhängigkeit von dem Genotyp und dem Jahreseinfluß. Bei gleicher Apfelsorte traten Differenzen zur Kontrolle von 32 (1994) bis 71 % (1993) auf, wobei diese Werte im Bereich der getesteten Bestrahlungsdosen nur geringfügige Abweichungen aufwiesen. Demgegenüber zeigte das Merkmal 'Samen pro Frucht' nahezu keine Jahres- und Genotypabhängigkeit; bei den Bestrahlungsvarianten wurden für alle Genotypen 90 bis 100 % der Samenzahl pro Frucht im Vergleich zur Kontrolle erreicht. Die Verminderung der Embryonenanzahl pro Frucht bei Einsatz des bestrahlten Pollens war sehr stark ausgeprägt und wurde in erster Linie vom Jahreseinfluß (1993: 15 bis 20 %; 1994: 0,5 bis 6% vom Wert der Kontrolle) bestimmt, während die Abhängigkeit vom Genotyp sowie der Bestrahlungsdosis zu vernachlässigen war.

Zur Verbesserung der Sproßregeneration aus den Embryonen in der anschließenden In-vitro-Phase wurden die Embryokultur (ZHANG et al. 1991), die Kotyledonenkultur (KOUIDER et al. 1984) sowie eine Embryokultur nach 6wöchiger Lagerung von reifen Früchten (BARTH und BULARD 1982) getestet. Die zum gegenwärtigen Zeitpunkt vorliegenden Ergebnisse des Versuchsjahres 1993 belegen, daß die oben genannten Regeneration-

stechniken für die 3 getesteten Genotypen alternativ genutzt werden können. Ein Vergleich der Entnahmetermine zeigte, daß 4 Monate nach Bestäubung sowohl für die Adventivsproßregeneration in der Kotyledonenkultur als auch für die direkte Keimung der Embryonen gegenüber 3 Monate begünstigt ist. Die statistische Auswertung für einzelne Nährmedien und Genotypen steht mit der Erhöhung der Probenanzahl noch aus. Die gewonnenen Regenerate wurden nach Vermehrung und Bewurzelung in das Gewächshaus überführt und stehen zur Veredlung bereit.

Die aufgefundenen Regenerate wiesen ausschließlich den grünen Phänotyp auf, so daß eine Kreuzung mit der rotlaubigen Hybride von *Malus pumila* var. Niedzwetzkyana ausgeschlossen werden kann. Die Ermittlung des diploiden Plodiegrades für die untersuchten Pflanzen mit Hilfe von cytometrischen Messungen sowie der Nachweis der Homozygotie von 36 % der Regenerate durch den Einsatz von Isoenzymanalysen weisen auf eine spontane Chromosomenverdopplung zu Beginn der embryogenen Entwicklung hin. (BAZ-4110)

In Zusammenarbeit mit: Keulemans, Fruitteeltcentrum K.U. Leuven, Belgien; Lespinasse, INRA Angers, Frankreich

085

2.8. Erzeugung von haploidem Ausgangsmaterial bei *Prunus* auf dem Weg der In-situ-Parthenogenese mit anschließender In-vitro-Kultur der unreifen Embryonen - Induction of haploid basic material in *Prunus* by means of in situ parthenogenesis and in vitro culture of immature embryos

Höfer, M.

Für die Züchtungsschwerpunkte bei Kirsche, Resistenz und Selbstfertilität, ist der Einsatz von haploidem bzw. homozygotem Ausgangsmaterial von größter Bedeutung. Ziel ist die Induktion von haploiden Embryonen und die Ausarbeitung methodischer Lösungen zur Regeneration von Pflanzen.

Analog zu den Arbeiten des vorherigen Projektes bei *Malus* war es das Ziel, die parthenogenetische Entwicklung von Embryonen mittels bestrahltem Pollen zu induzieren, wobei als Markerpollen die rotlaubige Art *Prunus cerasifera*, Gartenform 'Atropurea', zum Einsatz kam. In Vorversuchen wurden die Bestrahlungsdosis, der Entnahmetermine sowie unterschiedliche Regenerationstechniken der Embryonen für die Kirschsorte 'Altenburger' getestet. Die Ergebnisse zeigten in Abhängigkeit von der Bestrahlungsdosis eine Abnahme des Fruchtansatzes um 66 % im Vergleich zur Kontrolle ohne Bestrahlung. Die Sproßregenerationsraten der Embryonen für die untersuchten Entnahmetermine, 34 und 74 Tage nach der Bestäubung, brachten gegensätzliche Tendenzen der eingesetzten Regenerationstechniken zum Ausdruck. Während die Kotyledonenkultur für den 1. Termin höhere Raten aufwies, zeigte sich für die Embryokultur der 2. Termin überlegen. Die Beurteilung der Ausprägung des roten Markergens in der Kontrollvariante ohne Bestrahlung ergab, daß das Markergens im Pollenspender nicht im homozygot dominanten Zustand vorliegt und somit

nur teilweise für das Auffinden von Sämlingen parthenogenetischen Ursprungs in den Nachkommenschaften eingesetzt werden kann. Erste Ploidiegradbestimmungen mittels Durchflußcytometrie wiesen anschließend den diploiden Ploidiegrad auf.

Aufbauende Versuche im Berichtsjahr, welche die Erweiterung des Genotypspektrums sowie die Testung von höheren Bestrahlungsdosen beinhalteten, führten auf Grund von starkem *Monilia*-Befall im Kirschbestand zu sehr niedrigen Fruchtansätzen sowie Embryoausbeuten, so daß eine analoge Analyse der Regenerationsraten nicht möglich war. Insgesamt wurden nur 21 Embryonen in der Kotyledonenkultur eingesetzt; aus 8 Kotyledonen regenerierten Sprosse. Zum gegenwärtigen Zeitpunkt befinden sich 3 bewurzelte Pflanzen im Gewächshaus, wobei auf Grund von cytometrischen Messungen eine als haploid identifiziert werden konnte. (BAZ-4111)

In Zusammenarbeit mit: Fischer, IPK Genbank Obst, Dresden-Pillnitz

086

2.9. Einsatz von Iso-Enzymmarkern zur biochemischen Charakterisierung von In-vitro-Regenerationssystemen bei Apfel - Use of isoenzymes as markers for the biochemical characterization of in vitro regeneration systems in apple Höfer, M., Grafe, C.

Ziel ist die Entwicklung sowie Anwendung einer gelelektrophoretischen Nachweismethode von Isoenzymmarkern zur biochemischen Beschreibung von Entwicklungs- und Differenzierungsprozessen in verschiedenen In-vitro-Regenerationssystemen bei Apfel, um die Kulturführung und die Regenerationsrate zu erhöhen. Daran anschließend soll sich die Charakterisierung der Regeneratpflanzen mittels Isoenzymen.

Im Berichtszeitraum wurden zunächst Untersuchungen zur Auffindung von Isoenzymzonen, die Aussagen über die Vererbung gestatten, durchgeführt. Dazu wurden die Nachkommenschaften von vier Kreuzungskombinationen für die Enzymsysteme Endopeptidase (ENP), Leucinaminopeptidase (LAP), Saure Phosphatase (ACP), Peroxidase (PER), Diaphorase (DIA), Malatdehydrogenase (MDH), Isocitratdehydrogenase (IDH), 6-Phosphogluconat-Dehydrogenase (6-PGDH), Superoxid-Dismutase (SOD) und Esterase (EST) genetisch analysiert, wobei jeweils ein in der Antherenkultur bzw. in der In-situ-Parthenogenese genutzter Genotyp einen Elter darstellte. Für ENP, LAP-I, ACP sowie PER-III konnte disom monogen bedingte Vererbung festgestellt werden, während die Spaltungsdaten für DIA, MDH-III, SOD-II sowie EST-V und EST-VI auf einen bigenen disomen Erbgang hinweisen. Die Enzymsysteme IDH und 6-PGDH verhielten sich invariant: Es zeigte sich, daß für den Homozygotienachweis uneingeschränkt nur monogen bedingte Isoenzyme genutzt werden können, welche beim Spendergenotyp in heterozygotem Zustand vorliegen sowie in ihrer Ausprägung unabhängig von entwicklungsphysiologischen und kultivierungsbedingten Einflüssen sind. Bei bigen vererbenden Enzymsystemen ist die Erkennung homozygoter Regenerate nur in bestimmten

Fällen möglich, die von der Allelkonfiguration des Spendergenotyps abhängen.

Die Zygotiegradbestimmung an Antherenkultur-Regeneraten mittels der nutzbaren Isoenzyme ist problemlos, da sich die Regenerate entweder aus den Mikrosporen (homozygot) oder aus den Zellen der Antherenwand (heterozygot) entwickeln können. Alle Regenerate unterschiedlicher Entwicklungsstadien konnten als homozygot identifiziert werden. Dagegen erwies sich der Homozygotienachweis bei Regeneraten aus der In-situ-Parthenogenese als schwieriger, da neben der gewünschten Regeneration aus der unbefruchteten Eizelle weitere Möglichkeiten der Entwicklung von Regeneraten bestehen. Regenerate, deren Zymogramme auf eine Entstehung durch Selbstung, Regeneration somatischer Zellen des Fruchtknotengewebes bzw. Befruchtung mit bestrahltem Reizpollen oder unbekanntem Fremdpollen hinweisen, können problemlos erkannt und verworfen werden. Hingegen ist bei den als "homozygot" eingestuften Regeneraten stets die Wahrscheinlichkeit der Entstehung infolge Selbstung enthalten. Diese Wahrscheinlichkeit nimmt mit steigender Anzahl sich homozygot zeigender Isoenzyme ab.

Parallel zu den Untersuchungen zur Zygotiebestimmung konnten umfangreiche Beobachtungen zur Variabilität einzelner Enzymsysteme bzw. bestimmter Enzymzonen in Abhängigkeit von physiologischen Entwicklungsstadien und Kulturbedingungen gemacht werden. Erwartungsgemäß zeigten PER und EST neben ACP, MDH und DIA die größte Variabilität. Einige Bandenmuster konnten eindeutig bestimmten Entwicklungsstadien der pflanzliche Regeneration bzw. der Art des untersuchten Gewebes oder Pflanzenteils zugeordnet werden. Es traten jedoch auch Unterschiede innerhalb verschiedener Proben gleicher Entwicklungsstadien auf, deren Ursachen durch vertiefende Untersuchungen zu klären sind. (BAZ-4117)

087

3. Zuchtmethodik

3.1. Karyologische Untersuchungen des Apfelgenoms - Karyological investigations of the apple genome Schuster, M.;

Basierend auf der Etablierung von cytologischen Arbeitsmethoden für die Obstzüchtung besteht das Ziel in der karyologischen Beschreibung des Apfelgenoms. Neben der homogenen Färbung der Chromosomen soll versucht werden, mit differentiellen Färbemethoden einzelne Chromosomen zu charakterisieren.

Im Rahmen des vorliegenden Projektes wurden Methoden erarbeitet, welche die Grundlage für weitere cytogenetische Untersuchungen in der Obstzüchtung, im besonderen der Apfelzüchtung, bilden.

Schwerpunkte der Arbeiten lagen dabei in der Erarbeitung von Methoden zum direkten und indirekten Ploidiegradnachweis sowie zur Charakterisierung von Karyotypen.

Die Untersuchungen zeigen, daß der Karyotyp des Kulturapfels aus meta- bzw. submetazentrischen Chromoso-

men zusammengesetzt ist. Eine klare Zuordnung von homogen gefärbten Chromosomen ist infolge der geringen morphologischen Differenzierung nur bedingt möglich. Dies erfordert die Anwendung von differentiellen Färbemethoden bzw. anderer cytologischer Methoden wie der Nutzung molekularer Marker mit Hilfe der In-situ-Hybridisierung. Infolge der geringen Größe der Chromosomen des Apfelgenoms (1,2 bis 2,4 μm) ist eine genaue Auswertung und Dokumentation nur mit Hilfe einer computergestützten Bildauswertung möglich.

Im Mittelpunkt der cytologischen Arbeiten im Berichtszeitraum lag die Beschreibung des Karyotyps von *Malus domestica* Borkh. 'Pinova' mit Hilfe differentieller Färbemethoden (C-, N-, HKG-banding, AgNO_3 -Färbung). Trotz intensiver Untersuchungen konnte nur in Einzelfällen eine Bandierung aller Chromosomen mit Hilfe der Giemsa-C-banding-Technik erzielt werden. Es zeigt sich, daß auf allen Metaphasechromosomen Bandierungen nachweisbar sind. Neben zentromeren Banden treten auch interkalare und terminale Banden auf. Diese Bandierungen sind bereits in ungefärbten Präparaten im Phasenkontrast nachweisbar. (BAZ-4105)

088

3.2. Entwicklung von tetraploidem Ausgangsmaterial für die Kirschenzüchtung - Development of tetraploid basic material for the cherry breeding

Schuster, M.; Wolfram, B.; Hanke, V.

Mit Hilfe der Chromosomenverdopplung durch Kolchizinbehandlung an Süßkirschen in vivo und in vitro sollen tetraploide Süßkirschenklone entwickelt werden. Diese Süßkirschen sollen als Ausgangsmaterial in die Kirschenzüchtung einfließen.

Zur Schaffung von definiertem Ausgangsmaterial für die Polyploidisierungsversuche bei der Süßkirsche wurden gezielte Kreuzungen und Selbstungen mit den Sorten 'Kassins Frühe', 'Van', 'Sanburst', 'Lapins' und 'Büttner Späte Knorpel' (11 Kombinationen) durchgeführt. Von dem geernteten Saatgut wurden Samen zur Kolchizinierung in vitro sowie in vivo verwendet.

In vitro erfolgte die Polyploidisierung während der Kotyledonenkultur im Rahmen von Untersuchungen durch Frau Dr. Hanke (siehe Projekt 4119).

Versuche zur Kolchizinierung in vivo erfolgten durch die Behandlung von angequollenen Samen auf mit Kolchizinlösung getränktem Filterpapier und durch das Aufbringen einer zähflüssigen Kolchizin-Tragant-Lösung nach SCHUMANN (1960) auf die Sproßspitzen junger Sämlinge bzw. die Ansatzstellen der Keimblätter nach deren Entfernung. Als erfolgversprechende Methode zur Polyploidisierung der Süßkirschen erwies sich die Behandlung angequollener Samen. Mit Hilfe dieser Technik wurden 114 Samen unmittelbar nach der Ernte der Früchte behandelt. Die von ihrer Samenschale befreiten und vorgequollenen Samen wurden für 24 h mit einer 0,3%-igen Kolchizinlösung behandelt. Im Ergebnis konnten mit Hilfe durchflußcytometrischer Messungen acht tetraploide Sämlinge (7%) selektiert werden. (BAZ-4106)

089

3.3. Untersuchungen zum Ausmaß molekularer Polymorphismen beim Apfel - Investigations of the extent of molecular polymorphisms in apple

Schreiber, H.; Dathe, B.; Fischer, C.

Die RAPD/PCR erlaubt, mit relativ geringen Kosten an einem umfangreichen Sortiment gezielt den Polymorphiegrad in willkürlich gewählten Genombereichen zu analysieren. Dadurch können erstmalig auch in der Gattung Malus, für die kaum genetisch definierte morphologische Marker zur Verfügung stehen und die ein offenes Reproduktionssystem darstellt, eine ganze Reihe wesentlicher Fragen der Materialführung in der Züchtung und beim Schutz der Erhaltung und Nutzung genetischer Ressourcen geklärt werden.

Methodische Untersuchungen

Die vorgesehenen, umfangreichen PCR-Analysen an einem breiten Materialspektrum erforderten die Etablierung von Methoden für die schnelle DNA-Isolierung aus unterschiedlich kultiviertem Pflanzenmaterial und die Optimierung der Reaktion auf einen minimalen Taq-Polymeraseverbrauch. Im Ergebnis dieser Optimierungen wurde der PCR-Ansatz auf das kleinstmögliche Volumen von 12,5 μl mit Ölüberschichtung reduziert. Dadurch konnte der Verbrauch an Polymerase auf 1/10 (0,1 U pro Ansatz) verringert werden.

Untersuchungen zum Polymorphiegrad in *Malus x domestica*

Es wurden 20 ältere Sorten und Zuchtklone, 24 neue, mehrfachresistente Pillnitzer Sorten und Zuchtklone sowie 7 neue Apfelunterlagen mit vorher getesteten Dekamer-Oligonukleotidprimern analysiert. Die in Europa und Nordamerika ausgelesenen traditionellen Sorten wie z.B. 'Golden Delicious', 'James Grieve', 'Cox Orange', 'Mc Intosh', 'Alkmene', 'Clivia' u.a. zeichnen sich durch originelle Geschmacks- bzw. Fruchtqualitätsmerkmale aus, haben aber untereinander den vergleichsweise geringsten Polymorphiegrad von durchschnittlich 2,5 unterschiedlichen RAPD-Banden im paarweisen Vergleich und gemittelt über 10 Primer. Der Polymorphiegrad ist jedoch ausreichend, um in Abhängigkeit vom verwendeten Primer mehr als 80 % der einbezogenen Sorten zu unterscheiden und typische Bandenmuster zur Sortenidentifizierung zu erstellen. Das ist bei den neuen, resistenten Pillnitzer Sorten und Klonen (Re-Sorten) auf Grund des höheren Polymorphiegrades von durchschnittlich 2,8 Bandenunterschieden im paarweisen Vergleich der resistenten Sorten untereinander noch besser möglich. Eine nochmalige Erhöhung des Polymorphiegrades mit durchschnittlich 3,4 unterschiedlichen Banden wurde zwischen den Apfelunterlagen gefunden. Die Erhöhung der genetischen Variabilität bei den Unterlagen und Re-Sorten kann mit der Einkreuzung von Wildarten als Donoren für Wüchsigkeit bzw. Resistenz erklärt werden. Obwohl insbesondere bei den Re-Sorten mehrere Rückkreuzungen mit Kultursorten erfolgten, ist ein Restanteil genetischer Information der Wildart auf Grund der vorliegenden Untersuchungen wahrscheinlich. Da verschiedene willkürlich ausgesuchte Primer in sehr unterschiedlichen Bereichen des Apfelgenoms Polymorphie erkennen lassen, ist anzunehmen, daß die durch die

Artkreuzung erweiterte genetische Variabilität nicht mit den eingekreuzten Resistenzgenen bzw. -genen gekoppelt sein muß. Dadurch sollte es möglich sein, noch vorhandene, unter Umständen ungünstige genetische Informationen aus den Wildarten durch freie Rekombination in einer genügend breiten Materialbasis unter anderem durch Kreuzungen und Selektionen innerhalb der stark differierenden mehrfach resistenten Sorten und Klone zu eliminieren.

Untersuchungen an Kreuzungseltern und Nachkommenschaften

Einen Schwerpunkt bei der Anwendung molekulargenetischer Methoden in der Obstzüchtung bilden Versuche zur Genomkartierung und markergestützten Selektion bei Resistenz- und Fruchtqualitätsmerkmalen. Dazu sind segregierende Nachkommenschaften für eine Vielzahl von Loci erforderlich. Voruntersuchungen an Kreuzungseltern von zwei auf Grund der phänotypischen Variabilität in Resistenz- und Fruchtqualitätsmerkmalen geeignet erscheinenden Nachkommenschaften zeigten, daß von 80 in der PCR eingesetzten Primern bei dem einen Elternpaar 44 (55 %) und bei den anderen Eltern 42 (52 %) informativ waren. In parallel durchgeführten Versuchen mit zwei Stübkirschen wurden nur bei 41 % der Primer Unterschiede gefunden. Da beim Obst keine genetisch definierten homozygoten Linien für Genkartierungen zur Verfügung stehen, bedeutet eine Polymorphie bei den Eltern nicht in jedem Fall eine Segregation in der Nachkommenschaft. In einer bisher eingehender untersuchten Nachkommenschaft sind überraschenderweise bei mehr als 50 % der informativen Primer keine Spaltungen von RAPD-Markern bei den Nachkommen zu beobachten. Das bedeutet, daß bei diesen Loci die Kreuzung AA x aa vorliegt, die eine einheitliche F₁ (Aa) hervorbringt. Die für Kartierungen günstigere 1:1 Spaltung (Aa x aa) wurde leider selten gefunden, wohingegen nicht erwartete 3:1 Spaltungen (Kreuzung: Aa x Aa) wieder häufiger vorkamen. Somit scheinen die vorwiegend dominanten RAPD-Marker beim Obst weniger gut für Kartierungen geeignet zu sein als codominant vererbte RFLP- oder AFLP-Marker. Außerdem sind langfristig für die vollständige Erfassung der Merkmalsvariabilität, insbesondere bei quantitativen Resistenz- und Fruchtmerkmalen, Geschwisterkreuzungen innerhalb analysierter Populationen bzw. Rückkreuzungen einzelner Nachkommen mit den Kreuzungseltern angebracht.

Untersuchungen an Herkünften des einheimischen Wildapfels *Malus silvestris*

Der Schutz und die Erhaltung genetischer Ressourcen ist beim Baumobst nur in begrenztem Umfang möglich. Deshalb muß insbesondere beim selbstinkompatiblen, aber interspezifisch leicht kreuzbaren Wildapfel die Echtheit, d.h. der Autochthoniegrad, geprüft werden. Dazu sind neben einigen vorhandenen morphologischen Charakteristika Polymorphismen auf DNA-Ebene heranzuziehen. An 20 geographisch unterschiedlichen Wildapfelherkünften konnte demonstriert werden, daß über RAPD/PCR-Analysen Hinweise über Introgressionen des Kulturapfels in den Wildapfel gegeben werden können. Ein eindeutiger Nachweis spezifischer *Malus x domestica*-Sequenzen in bestimmten Bäumen erfordert jedoch weitere Analysen.

Nachweis apomiktischer Fortpflanzungsweise bei *Malus toringoides*

Die Verfügbarkeit apomiktischer Zuchtsorten würde den Erwerbsobstbau und die Vermehrung rationalisieren. Es muß aber vorausgesetzt werden, daß die Samen- und Fruchtbildung ohne Befruchtung hundertprozentig funktioniert. Das konnte erstmalig an 25 Sämlingen von *Malus toringoides* mit Hilfe der RAPD/PCR eindeutig nachgewiesen werden, denn alle Sämlinge waren untereinander identisch.

Zusammenfassend ist zu bemerken, daß DNA-Polymorphismen innerhalb der Gattung *Malus* als Indikator für die genetische Struktur und Zusammensetzung eines Genpools dienen können. Es ist möglich, die Auswirkungen von spontanen und gezielten Artkreuzungen auf das Ausmaß von DNA-Sequenzvariationen zu erfassen. (BAZ-4116)

In Zusammenarbeit mit: Büttner, Fischer, IPK Genbank Obst, Dresden-Pillnitz

090

3.4. Zusammenhang 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 zahlreichen Pflanzen zur Aktivierung des Polyaminstoffwechsels, die als Stressabwehr interpretiert wird. Es sollen bei Obstgehölzen ähnliche Mechanismen nachgewiesen werden, die Grundlage für die Entwicklung effektiver biochemischer Resistenztests sein können. Vorrangig unter den Stressfaktoren sind Mehltau und Schorf sowie Spätfrost.

Die quantitative chromatografische Analyse (HPLC) der Polyamine konnte auf Grund der guten Reproduzierbarkeit weiter verbessert werden. Der Gehalt an säurelöslichen freien Polyaminen in Blättern unterschiedlicher Genotypen zeigte im Verlaufe der Vegetationsperiode eine charakteristische Rhythmik. Die Hauptkomponente, das Spermidin (Spd), war durch einen starken Abfall der Konzentration im Mai und Juni gekennzeichnet; nach einem Minimum im Juli erfolgte bis zum September nur noch ein geringer Anstieg der Spd-Konzentration. Die Spermin-(Spm)-Konzentration, die meist weniger als 1/5 der des Spd ausmachte, verringerte sich ständig im Verlauf der Vegetationsperiode. Das Putrescin (Put), zu Beginn die geringste Komponente, nahm ab Juli wieder deutlich zu. Das Verhältnis von Spd zu Put war sortentypisch ausgeprägt. Die daraus abgeleitete Rangfolge der Genotypen zeigte eine weitgehende Übereinstimmung mit der Resistenzprägung dieser Genotypen. Charakteristisch für die bei Apfelwildarten ausgeprägte Pilzresistenz ist das auf geringem Put-Gehalt beruhende hohe Spd/Put-Verhältnis. Eine analoge Beziehung konnte bei In-vitro-Material nachgewiesen werden. In-vitro-Material ist allgemein dadurch gekennzeichnet, daß der Put-Gehalt deutlich höher ist als bei Freilandmaterial. Bei einigen Genotypen und unter bestimmten Kulturbere-

dingungen kann der Put-Gehalt den Spd-Gehalt übersteigen. In-vitro-Mehltauinfectionen zeigen darüber hinaus, daß bei anfälligen Genotypen mit hohem Put-Gehalt und niedrigem Spd-Put-Quotienten nach Mehltauinfectionen kaum Veränderungen, bei resistenten Wildarten aber deutliche Verschiebungen im Spd/Put-Verhältnis auftreten. An aus Kotyledonenkultur hervorgegangenen Apfelsprossen waren in Abhängigkeit vom Untersuchungs-termin stark ausgeprägte Unterschiede im Put-Gehalt festgestellt worden; gut wachsende Regenerate wiesen geringe Put-Gehalte auf, die denen von Freilandmaterial nahe kamen. (BAZ-4118)

091

4. Qualitätsprüfung

4.1. Entwicklung von Selektionskriterien für hohe Fruchtqualität bei der Züchtung resistenter Obstsorten - Development of selection criteria for high fruit quality in breeding of resistant fruit varieties

Sandke, G.

Durch Zucker- und Säuregehaltsbestimmungen in Sauerkirsch-, Erdbeer- und Apfelfrüchten aus dem Resistenz- und Sortenzuchtmaterial wird die Fruchtqualität charakterisiert und deren Vererbung analytisch begleitet. Mit Hilfe von Polyaminanalysen in Apfelfrüchten soll versucht werden, durch diese Indikatorsubstanzen über die Lagereignung und Streßbelastbarkeit der Früchte eine Aussage zu treffen.

Die Qualitätsbewertung umfangreicher Fruchtproben von Sauerkirschen und Äpfeln zum Erntetermin hat ergeben, daß der Zucker- und Säuregehalt im Mittel dem von 1992 sehr nahe kam. Während der Säuregehalt beider Obstarten 1994 nur ganz geringfügig darunter lag, war der Zuckergehalt bei Apfelfrüchten etwa 7 % niedriger, bei Sauerkirschen dagegen 4 % höher. Bei allen Proben ist das Jahr 1994 im mittleren Zucker- und Säuregehalt der Früchte zwischen dem von 1992 und 1993 einzuordnen. Die Erdbeersorten, von denen nur ein Vergleich zu 1993 möglich war, hatten im Mittel etwa den gleich hohen Säure-, aber einen um 10 % niedrigeren Zuckergehalt. In Zusammenarbeit mit Dr. Dathe wurden von insgesamt 2200 Erdbeersämlingen einer diallelen Kreuzungsserie (32 Kreuzungsnachkommenschaften) die Zucker- und Säurewerte ermittelt. Mit diesem umfangreichen Zahlenmaterial sollen im Jahre 1995 Heritabilitätsschätzwerte für die Vererbung von Zucker und Säure bei Erdbeeren erarbeitet werden.

Die Polyaminanalysen der Apfelfrüchte haben ergeben, daß sich die Äpfel im mittleren Gehalt an Putrescin, Spermidin und Spermin in den Jahren 1992 und 1993 nicht signifikant unterschieden. Auch zwischen Herbst-, Winter- und Langzeitlagersorten gab es im Mittel nur graduelle Unterschiede. Während der Lagerung waren zwischen Ein- und Auslagerung ein signifikanter Anstieg des Putrescingehaltes und eine signifikante Abnahme des Spermingehaltes festzustellen. Es gibt aber einzelne Sorten und Zuchtklone, die sich vom mittleren Polyamingehalt und den Veränderungen während der Lagerung deutlich unterscheiden. (BAZ-4107)

092

Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

Groß Lüsewitz

Aufgabe des Institutes ist die Erstellung von Basismaterial von verschiedenen landwirtschaftlichen Kulturarten mit hoher Resistenz- und Produktqualität bei zugleich hoher Nährstoffeffizienz. Ergänzend zur klassischen Zuchtmethodik werden biotechnologische Verfahren genutzt.

1. Erstellung von Basismaterial

1.1. Erarbeitung einer einfachen Methode zur Ermittlung der Braunfäuleresistenz (*Phytophthora infestans*) von Kartoffeln - Elaboration of a simple method to assess resistance of potatoes to brown rot (*Phytophthora infestans*)

Darsow, U.

Es wird das Resistenzverhalten ganzer Knollen mit dem Ziel untersucht, am Ort der züchterischen Bearbeitung auch die Prüfung auf Braunfäuleresistenz bei Inokulation gesunder Knollen durchführen zu können.

Die Ergebnisse des Anbaujahres 1994 unterstreichen, daß die Prädisposition des Resistenzverhaltens durch Umweltfaktoren im Feld bei Eindringen des Erregers durch die Knollenschale während des Tests im Labor eine erhebliche Rolle spielt. Die Bodenfeuchte änderte sich zwischen Juli und September von 5 auf >50 % der Feldkapazität. Die Relation zwischen dem Anteil von Infektionen durch die Lentizellen oder Augen änderte sich während dieser Zeit klonspezifisch. Der Anteil in der Prüfung krank werdender Knollen war stark von der Bodenfeuchte der letzten Tage vor der Ernte bestimmt. Natürliche Infektionen im Feld fanden nicht statt. Die Beziehung der erprobten methodischen Varianten zum Scheibentest wird an zahlreichen Sorten und verschiedenartigem Basismaterial untersucht. (BAZ-3112)

In Zusammenarbeit mit: Schöber-Butin, BBA, Braunschweig
093

1.2. 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.

Befall mit dem Kartoffel-M-Virus trat im Kartoffelanbau bei bestimmten Zuchtrichtungen in einigen Jahren stärker in Erscheinung. Geeignete Resistenzquellen sind bisher kaum verfügbar.

Der Zuchtaufbau mit Rückkreuzungslinien wurde 1994 weitergeführt. Die nun vorhandenen Testvoraussetzungen werden schärfere Selektion ermöglichen. 1993/94 wurden 30 fortgeschrittene Zuchtklone mit 2 x 4 Pflanzen durch Saftabreibung im Gewächshaus getestet. 8 Klone erwiesen sich im Nachbau befallsfrei, 5 zeigten 1 bis 15 % PVM-Befall. Der Rest war mittel bis stark befallen.

Schwerpunkt der Arbeit mit Wildmaterial war die Prüfung und Auslese auch auf andere Merkmale. Mitgeführte Standardsorten waren 14 bis 100 % befallen. Über die GFP wurden 1994 drei Klone mit komplexer Virusresistenz (Überempfindlichkeit gegen PVS, extreme Resistenz gegen PVX und PVY, geringe bis sehr geringe Anfälligkeit gegen PLRV, sehr geringe bis mittlere Anfälligkeit gegen PVM) und mittlerer bis guter sonstiger Merkmalsausprägung an deutsche Zuchtbetriebe abgegeben. (BAZ-3113)

In Zusammenarbeit mit: Schüler, Genbank Groß Lüsewitz
094

Tab. 1: PVM-Resistenzprüfung von Wildmaterial 1993/94

A r t	Zahl der Klone	% PVM-Befall im Nachbau			
		0	1-15	16-50	>50
chc ^a	1	0	0	1	0
tbr ^b x mga ^c	4	2	0	2	0
sto ^d x tbr	1	1	0	0	0
grl ^e x chc	19	19	0	0	0
(spg ^f x grl) tbr	1	0	0	1	0
tbr x grl	19	9	2	4	4
tbr x chc	1	0	1	0	0
grl x tbr	7	5	0	1	1
(acl ^g x tbr) tbr	11	4	0	3	4

a: *Solanum chacoense*, b: *S. tuberosum*, c: *S. megistacrolobum*, d: *S. stoloniferum*, e: *S. gourlayi*, f: *S. spgaziinii*, g: *S. acaule*

1.3. 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.

Für die Sortenzüchtung (Stammbaum-Züchtung, hoher Genverlust) ist kontinuierlicher Nachschub von Vererbern für überwiegend polygen bedingte Resistenz erforderlich. Auf dem Zuchtweg von der Wildart bis zur Abgabe von Basismaterial müssen die wichtigsten 10 bis 15 weiteren Merkmale mit bearbeitet werden.

Im Jahre 1994 wurde in Toluca eine weltweit intensive und komplexe Bearbeitung zur Kraut- und Braunfäulebekämpfung mittels pflanzlicher Resistenz als besonders dringlich hervorgehoben. Diese Bilanz nach 150 Jahren weist auf Fehler hin. Ein Fehler ist Geringachtung der Notwendigkeit und der Chancen züchterischer Bearbeitung auf der Ebene der Resistenzquelle (Wildart, biotechnologisch bearbeitetes Pflanzenmaterial) und der folgenden Kreuzungsschritte im Vorfeld der Sortenzüchtung. Bis zur Abgabe des Basismaterials sind etwa 95 % des genetischen Umbaus erfolgt; Unterlassungen erfordern weitere Kreuzungsschritte, die ein Auseinanderfallen des Resistenzgenkomplexes zur Folge haben. Über die GFP wurden den deutschen Zuchtbetrieben 1991 fünf und 1994 vier Klone als Vererber für Kraut- und Braunfäule-resistenz abgegeben. Der Resistenzvorteil beträgt bei der Krautfäule ein bis zwei Noten (etwa 2 bis 4 Wochen Vegetationsverlängerung bei insgesamt 2 bis 3 Fungizid-behandlungen) gegenüber der besten Sorte, bei der Braunfäule besteht er in einer Reduzierung des Befalls auf 1/10 bis 1/3 gegenüber besten Vergleichssorten. Besonders geringe Beschädigungsempfindlichkeit sowie günstige Reaktion gegenüber Naß- und Trockenfäule sind hervorzuheben. Drei Klone reifen mittelspät, einer mittelspät bis spät. Trotz der Einbindung von 5 bis 8 Linien aus *Solanum demissum*, eines Klons aus *S. tuberosum* ssp. *andigena* und z.T. *S. acaule* sowie *S. stoloniferum* stellt sich der Gesamtkomplex der Merkmale so dar, daß in ein bis zwei Kreuzungsschritten daraus Sorten mit verbesserter *Phytophthora*-Resistenz hervorgehen könnten. Da kaum Verwandtschaft vorliegt, werden neben additiven Effekten vor allem günstige Wechselwirkungen erwartet.

310 Wildartklone und Kreuzungsbastarde wurden im Einzelblatttest aus Gewächshauskultur auf Krautfäule-resistenz untersucht (Pathotypen 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, (8) 10, 11, + 1, 2, 3, 4, 6, 7, 8, (10) 11 + 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 10, 11 aus der BBA). Die Selektion wird gleichzeitig hinsichtlich Knollenmerkmalen, Virusanfälligkeit, Krautmerkmalen, Fertilität und Braunfäule-resistenz fortgeführt. Der Kreuzungserfolg blieb infolge der hohen Sommertemperatur gering. Die Auslese von Fusionaten aus dihaploiden *S. tuberosum* mit *S. bulbocastanum* bzw. *S. pinnatisectum* (Univ. Tübingen) nahm 1994 bereits einen bemerkenswerten Arbeitsanteil ein. Während in einer symmetrischen somatischen Kombination mehrjährig durchgehend hohe Resistenz festzustellen war, erwies sich pnt + tbr als nicht ausreichend resistent.

Unterschiedliche Variabilität zeichnet sich bei ersten asymmetrischen Kombinationen ab. Die weitere züchterische Nutzung erweist sich als nicht leicht. In der Feldprüfung auf Krautfäule-resistenz konnten Ergebnisse nur bei Wildarten im September erzielt werden. Fortgeschrittene Zuchtklone waren weitgehend abgereift, als die Wetterbedingungen für die Krankheit günstig wurden. Es wird versucht, den Ausfall durch Gewächshausprüfungen zu kompensieren. (BAZ-3114)

In Zusammenarbeit mit: Schilde-Rentschler, Univ. Tübingen; Schöber-Butin, BBA, Braunschweig; Schüler, Genbank Groß Lüsewitz

095

1.4. Biochemische Grundlagen und Methoden zur Erhöhung des Gehaltes, der Ausbeute und der Qualität von Getreidestärke für die industrielle Verwertung durch züchterische und agrotechnische Maßnahmen - Biochemical basis and methods for the increase of content, yield and quality of cereal starches by breeding and agricultural trials with the aim of an industrial utilization

Dill, P.

Schaffung von Roggen- und Triticaleformen mit veränderter Zusammensetzung an Korninhaltsstoffen (hohe bzw. niedrige amolytische Aktivität, Pentosan- und Stärkegehalt bzw. -qualität) als Basismaterial für die praktische Züchtung. Dabei werden die dafür notwendigen biochemischen Screeningverfahren erarbeitet.

Beim Roggen konnte in den Teilpopulationen mit hoher bzw. niedriger Amylaseaktivität und gleichzeitiger Mehltau- und Braunrostresistenz die Selektion auf geringen Pentosangehalt und Extraktviskosität fortgesetzt werden. Die bisherigen Ergebnisse gestatten noch keine gesicherte Aussage über eine erfolgreiche Verringerung des Pentosangehaltes und der Viskosität durch die Selektion. Die methodischen Untersuchungen für praxisrelevante sichere Screeningverfahren wurden intensiviert. (BAZ-3115)

In Zusammenarbeit mit: Flamme, BAZ, Inst. f. Streßphysiologie und Rohstoffqualität, Groß Lüsewitz

096

1.5. Evaluierung eines Wintertriticale-Sortiments auf hohe alpha-Amylaseaktivität - Screening of a triticale assortment for a high alpha-amylase activity

Dill, P.

Selektion von Formen mit hoher alpha-Amylaseaktivität, verbunden mit der Prüfung der Möglichkeiten für deren weitere Verbesserung

Innerhalb von 160 Linien mit hoher Aktivität wurde die Selektion auf eine Kombination mit hoher Fallzahl fortgesetzt. Trotz teilweiser Auswinterung blieb eine größere Anzahl von beiden Richtungen erhalten. Die 250 Formen des Genbanksortiments winterten vollständig aus. (BAZ-3116)

In Zusammenarbeit mit: Schlenker, Genbank Gülzow; Flamme, BAZ, Inst. f. Streßphysiologie und Rohstoffqualität, Groß Lüsewitz
097

1.6. Erstellung von Populationen mit kombinierter Mehltau- und Braunrostresistenz beim Roggen - Selection of rye populations resistant to both leaf rust and powdery mildew
Dill, P.

Die Kombination von Mehltau- und Braunrostresistenz soll bei Roggen den Fungizideinsatz vermindern und die Ertragssicherheit erhöhen (low input-Formen).

Für die Zielsetzung wurde in einer mehltaresistenten Teilpopulation auf Braunrostresistenz und in einer braunrostresistenten Teilpopulation auf Mehltaresistenz selektiert. Das für eine Vereinigung der beiden Teilpopulationen erforderliche gleich hohe Resistenzniveau konnte im Berichtsjahr noch nicht erreicht werden. Näs-seschäden im Frühjahr verhinderten in der mehltaresistenten Teilpopulation eine erfolgreiche Selektion. Diese Teilpopulation wurde zur Wiederholung der Selektion identisch aus der Restsaat ausgesät.

Der Aufbau mehltau- und braunrostresistenter Linien wurde fortgesetzt und Testkreuzungen auf Restorer- bzw. Fixatoreigenschaften durchgeführt. Das Resistenzniveau der durch die Testkreuzungen erzeugten Hybriden läßt noch Verbesserungen zu. (BAZ-3117)

098

1.7. Erstellung von Basismaterial bei Hafer mit Resistenz gegen Echten Mehltau und Gerstengelbverzweigungsvirus - Development of oat germplasm with resistance to powdery mildew and barley yellow dwarf virus
Herrmann, M.

Bereitstellung von Saathaferzuchtstämmen mit dauerhafter Resistenz gegen Echten Mehltau bzw. Toleranz gegen Gerstengelbverzweigungsvirus

Die Mehltaresistenz einiger Wildhaferherkünfte aus der Genbank des IPK Gatersleben bestätigte sich 1994 erneut unter extrem hohem Befallsdruck. Aus Kreuzungen mit verschiedenen Resistenzträgern (*Avena sativa*, *A. occidentalis*) liegen F₁- bis F₃-Nachkommenschaften vor, aus denen resistente Einzelpflanzen selektiert wurden. Die F₃-Nachkommen aus Kreuzungen mit APR 122 und APR 166 (Resistenz aus *A. pilosa*) wurden erstmalig hinsichtlich ihrer Standfestigkeit, Frühzeitigkeit, Tausendkorngewicht, Hektolitergewicht und Ertrag mit den Eltern verglichen. Nachkommen resistenter BC₂ F₂-Einzelpflanzen der Kreuzungen (*A. magna* x *A. macrostachya*) x *A. sativa* und (*A. prostrata* x *A. longiglumis*) x *A. sativa* erwiesen sich auch in der F₃ als resistent mit vorwiegend intermediärem Habitus (Fertilität, Rispenmerkmale, Tausendkorngewicht, Halmdicke, Bestockung, Pflanzenhöhe). Erste Kreuzungen zur Aufklärung der Vererbungsweise wurden durchgeführt. Nach 3jährigem Vergleich verschiedener Saathafer- und Wildhaferherkünfte, z.T. aus der Genbank des IPK Gatersleben, mit internationalen Standards für BYDV-Toleranz

kann letztere bei einigen Herkünften (*A. sterilis*, *A. fatua*, *A. strigosa*) als gesichert bezeichnet werden. Zusätzlich realisieren einige hexaploide Herkünfte wesentlich höhere Ährchenzahlen pro Rispe, was zur Erweiterung der Variabilität hinsichtlich der Ertragskomponenten genutzt wird. In einem BYDV-Toleranzscreening mit 50 Saathaferlinien und 35 F₂-Einzelpflanzennachkommen aus Kreuzungen mit *A. hybrida* (BYDV-tolerante Herkunft) zeigten sich signifikant höhere Werte für Toleranz (Bestockung, Pflanzenhöhe, Einzelpflanzenertrag, Rotblättrigkeit) bei einigen *A. sativa*-Linien und F₂-Nachkommen. (BAZ-3118)

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

099

1.8. 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.

Bereitstellung von Triticale-Basismaterial mit hoher Kornqualität (Tierfütterung), hoher Standfestigkeit und Eignung als nachwachsender Rohstoff.

Die 1993 selektierten sekundären *Triticale*-Stämme (Generation F₆ bis F₈) und -Einzelpflanzen wurden als Drillparzellen bzw. Einzelpflanzen (Einzelkornsaat) mit Standardsorten ('Tewo', 'Alamo', 'Lasko') verglichen. Im Drillversuch wurden Ertragskomponenten und Ertrag, Datum Ährenschieben, Krankheitsbefall, Standfestigkeit, Bestandeshöhe und das Hektolitergewicht ermittelt. Beim Krankheitsbefall gab es Unterschiede im Befall mit Ähren- und Blattseptoria sowie Fußkrankheiten (*Fusarium* ssp. bzw. *Pseudocercospora herpotrichoides*). Auswuchs und Lager traten nicht auf und Auswinterung wurde ausschließlich bei den gerstenplasmatischen *Triticale*-Stämmen (Ursprung: Prof. Dr. E. Clauß, BAZ Quedlinburg) festgestellt. Ein Teil der stark spaltenden Einzelpflanzennachkommen wurde hinsichtlich des Selbstungsansatzes nach Tüten-Isolation geprüft. Bei nahezu allen Einzelpflanzen zeigte sich eine vollständige Selbstfertilität. An überständigen Einzelpflanzennachkommen konnten Unterschiede in der Auswuchsneigung bonitiert werden. Weitere Untersuchungen zur Auswuchsresistenz am gesamten Zuchtmaterial sind für 1995 geplant. Erstmalig wurden 36 primäre *Triticale* bzw. *Secalotriticum* (octoploid und hexaploid) als Einzelpflanzen angebaut und beurteilt. (BAZ-3119)

100

1.9. Untersuchungen zur Erhöhung der Auskreuzungsrate bei Wintereraps für die Züchtung synthetischer Sorten - Increase of outcrossing in winter rape for the breeding of synthetic varieties
Rudloff, E.

Es sollen die Möglichkeiten untersucht werden, mit Hilfe eines auf dem genetischen Marker 'Erucasäure' basierenden Diagnoseverfahrens Linien mit hoher und stabiler

ler Auskreuzungsrate zu selektieren, wie sie für die Züchtung synthetischer Sorten notwendig sind.

Im Zuge der Selektion auf hohe Auskreuzungsrate bei erucasäurefreien Typen wurden die bisher selektierten Linien per manueller Bestäubung vermehrt, um eine Rekombination innerhalb der Linien zu ermöglichen und Saatgut für weitere methodische Analysen zu gewinnen. Die Selektion wird 1995 unter Einbeziehung neuen Materials weitergeführt. Es sollte ferner geprüft werden, ob ein Test erucasäurereicher Typen möglich ist, in dem das für erucasäurefreie Typen entwickelte und bewährte Testverfahren umgekehrt wird und der Es-reiche Typ mit einem Es-freien Bestäuber abblüht. Es zeigt sich, daß die Sicherheit, mit der homozygot dominante (ES-reiche) Typen von den Heterozygoten unterschieden werden können, wesentlich niedriger ist als bei der Trennung zwischen homozygot Rezessiven (ES-freien) und Heterozygoten. Dies läßt vermuten, daß der Marker 'Erucasäure' für diesen Fall weniger geeignet ist. (BAZ-3108)

101

1.10. Untersuchungen zur Erweiterung der genetischen Basis bei Winterraps (*Brassica napus* L.) und Erzeugung von Basismaterial für den food- und non-food-Bereich - Investigations on the improvement of the genetic basis in winter rape (*Brassica napus* L.) for food and non-food utilization
Rudloff, E.

Für die Schaffung von Winterraps-Basismaterial, das den vielfältigen Anforderungen an die Fettsäurezusammensetzung gerecht wird, die sich aus der food- und non-food-Verwendung ergeben, sollen in der ersten Phase, die gegenwärtig bearbeitet wird, umfangreiche Screenings Informationen über die Variabilität und gegenseitige Beziehungen einzelner Fettsäuren liefern sowie geeignete Individuen selektiert werden, aus denen in der zweiten Phase stabile Linien erzeugt werden, die geeignet sind, entweder direkt in die Sortenzüchtung einzufließen oder in der dritten Phase als Donoren für die Introgression in Winterraps auf generativem oder somatischem Wege zu dienen. Gegenwärtig werden ausschließlich Sommerformen bearbeitet.

Nach Anschaffung eines Kapillar-GC im Herbst 1993 wurden mit intensiver Unterstützung durch das Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität die üblichen Methoden zur Fettsäurebestimmung einschließlich der Halbkornmethode etabliert, so daß die Gruppe nunmehr in der Lage ist, die im Rahmen des Projektes nötigen Analysen weitgehend selbständig durchzuführen. Zur Selektion von geeigneten Einzelpflanzen für den Linienaufbau wurden 650 10-Korn-Proben aus insgesamt 23 Arten analysiert und 52 Linien mit je 15 bis 30 Pflanzen angebaut, bonitiert und reproduziert. Außerdem wurden weitere 115 Muster aus etwa 60 Arten ausgesät, die im wesentlichen vom Botanischen Garten Berlin-Dahlem und der Abteilung Genbank des Institutes für Pflanzen-genetik und Kulturpflanzenforschung Gatersleben bezogen wurden. Neben der Gattung *Brassica* waren unter anderem die Gattungen *Sinapis*, *Eruca*, *Crambe*, *Camelina*, *Sisymbrium*, *Alyssium*, *Erysimum*, *Lobularia*, *Rapi-*

strum, *Hirschfeldia*, *Malcolmia* vertreten. Die Selektion wird unter Einbeziehung dieser Formen fortgeführt.

Die Variabilitäts- und Korrelationsstudien des Fettsäurespektrums wurden fortgeführt und die 1993 festgestellte Variabilität sowohl im Gehalt als auch in der Korrelation zwischen verschiedenen Fettsäuren bestätigt. So schwankte der sortenspezifische C 22:1-Gehalt bei *Brassica juncea* (12 Muster) zwischen 9,3 und 45,9 %, die Korrelation zu C 18:1 zwischen -0,46 und -0,95. Bei *Sinapsis alba* (11 Muster) liegt der C 22:1-Gehalt zwischen 54,3 % und 29,6 %, die Korrelation zwischen -0,78 und -0,96; bei *Brassica napus* (11 Muster) wurden zwischen 31,8 % und 0,0 % C 22:1 beobachtet, die Korrelationen schwankten zwischen 0,12 und -0,98. (BAZ-3109)

In Zusammenarbeit mit: Friedt, Univ. Gießen

102

1.11. Genetisch-zuchtmethodische Untersuchungen zur Etablierung eines praktikablen Funktionssystems für die Nutzung der Heterosis bei Winterraps (*Brassica napus* L.) auf Basis der sporophytischen Selbstinkompatibilität - Investigations on the utilization of self-incompatibility for hybrid seed production in winter oilseed rape (*Brassica napus* L.)
Rudloff, E.

Es sollen Industrie- und Doppel-Null-Rapslinien mit starker und stabiler Selbstinkompatibilität (SI) erzeugt werden, die der Klärung befruchtungsbiologischer Probleme bei der Hybridsaatguterzeugung bzw. als Basismaterial für die Züchtung dienen.

Die Arbeiten zur Selektion von SI-Linien bei Doppelnull- und Industrieraps wurden fortgeführt. In einigen Fällen mußten Linien verworfen werden, da sich die SI nicht bestätigte. Auch aus diesem Grunde ist für die Zukunft vorgesehen, moderneres Zuchtmaterial für die Einlagerung der SI zu verwenden. In Auswertung mehrjähriger Versuche zur SI-Ausprägung bei S-Heterozygoten konnte ein genereller Zusammenhang zwischen Blühtermin und Selbstungsneigung nicht festgestellt werden. Damit scheint die Hypothese, daß die bei S-Heterozygoten oft zu beobachtende, vermutlich heterosisbedingte Entwicklungsbeschleunigung zu einer Abschwächung der SI im frühen Blühstadium führt, nicht zuzutreffen. Für die Hybridsaatgutproduktion ist zu empfehlen, nicht nur die SI-Linien selbst, sondern auch ihre S-Heterozygoten auf Stärke und Stabilität der SI zu prüfen. (BAZ-3120)

103

1.12. 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 tetraploiden Genotypen vereinigt werden.

Weitere 42 2x-Genotypen verschiedener Abstammung aus *Solanum tuberosum* x Wildartkreuzungen mit hohen Resistenz-, Qualitäts- und Ertragseigenschaften wurden für die Protoplastenfusion ausgewählt. Die aus Elektrofusion erhaltenen somatischen Hybriden des Jahrganges 1993 standen 1994 zu vergleichenden Untersuchungen unter Freilandbedingungen. Es konnten 50 Fusionshybriden für die weitere Selektion geerntet werden. Somatische Hybriden des Jahrganges 1994 stehen gegenwärtig mit 435 Linien für Vegetationsbeobachtungen und Knollenerzeugung im Gewächshaus. (BAZ-3101)
In Zusammenarbeit mit: Wenzel, TU München; Schilder-Rentschler, Univ. Tübingen

104

1.13. 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, high resistance to late blight, nematodes and viruses in 24chromosome potatoes

Tiemann, H.

Erstellung von Primär-, Inter- und Hybriddihaploiden zur Nutzung der disomen Vererbung in der Kartoffelforschung

Durch die Herstellung neuer dihaploider Genotypen bei der ausgeprägt heterozygoten tetraploiden Kartoffel konnten weitere Kreuzungspartner für neue Genkombinationen erschlossen werden. Im Rahmen der Produktqualität wurde ein umfangreiches Dihaploidsortiment auf Chips- und Pommes-frites-Qualität vergleichend bei 4 °C- und 8 °C-Lagerung untersucht. Es konnten Genotypen ermittelt werden, die nach 3,5- und 7monatiger Kaltlagerung noch befriedigende Chips- und Pommes-frites-Werte aufwiesen. Hinzu kommt die große Variabilität im Merkmal 'Keimruhe'. Die besten Chips- und Pommes-frites-Genotypen wurden 1994 im Zuchtgarten verstärkt vermehrt, so daß der folgende Untersuchungszyklus mit 4 bis 5 Wiederholungen erfolgen kann. Für weitere Untersuchungen auf agronomisch wichtige Merkmale wurden 306 2x-Genotypen verschiedener Dihaploid-Kombinationen selektiert. Über die GFP wurden 1994 15 dihaploide Stämme mit vielseitiger Merkmalsausprägung zur Durchführung weiterer sexueller Kreuzungen und somatischer Hybridisierung an deutsche Kartoffelzüchter abgegeben. (BAZ-3102)

In Zusammenarbeit mit: Proll, BAZ, Inst. f. Pathogen-diagnostik, Aschersleben; Schöber-Butin, BBA, Braunschweig

105

1.14. 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.

Erstellung von meiotischen Hybriden zur Nutzung des Heterosiseffektes in der Kartoffelforschung

Bei der meiotischen Retetraploidisierung wurden unreduzierte Eizellen (diplogynoide Gameten) durch 2x . 4x-Kreuzungen und unreduzierte Pollen (diplandroide Gameten) durch 4x . 2x-Kreuzungen genutzt. Der Beeren- und Samenansatz war bei diesen Kreuzungen im Vergleich zu 4x . 4x-Kombinationen deutlich geringer. Im Mittel aller Kombinationen wurden bei der Erzeugung diplogynoider und diplandroider Tetraploider 7 Samen je samenhaltiger Beere erhalten. Dabei traten keine Unterschiede zwischen Kreuzungseltern mit ps-(parallel spindles) und pc-(premature cytokinesis)-Mechanismus auf. Für die Valenzkreuzungen wurden als tetraploider Kreuzungspartner Sorten und Zuchtstämme ausgewählt, die durch ihre genetische Konstitution noch fehlende Merkmale einbringen können. Aus dem Sämlings-Nachbau 1994 im Freiland konnten 232 Einzelpflanzen für den weiteren Zuchtaufbau selektiert werden. Das Leistungsniveau der Nachkommen in der Folgegeneration wird entscheidend von den eingesetzten Kreuzungseltern und deren Verwandtschaftsgrad bestimmt. Durch parallel laufende meiotische und somatische Hybridisierung mit gleichen Kreuzungseltern wurden gleichzeitig weitere züchtungsmethodische Fragen untersucht. Über die GFP wurden 1994 10 tetraploide Stämme aus dem Programm der meiotischen Retetraploidisierung für die Nutzung als Kreuzungspartner und Vergleich der Expression der Merkmale gegenüber Stämmen aus der konventionellen Züchtung an deutsche Kartoffelzüchter abgegeben. (BAZ-3103)

In Zusammenarbeit mit: Schöber-Butin, BBA, Braunschweig; Stachewicz, BBA, Kleinmachnow

106

2. Biotechnologie

2.1. Etablierung einer effektiven Fusionsmethode für Kartoffelgenotypen und Anpassung der Fusionstechnik an ein genetisch breites Material - Introduction of an effective fusion method for potato genotype and adaptation of the fusion technique to a genetically wide material
Sonntag, K.; Thieme, R.

Ziel der biotechnologischen Arbeiten bei der Kartoffel ist es, züchterisch wertvolle dihaploide Genotypen ($2n = 2x = 24$) mit speziellen Resistenz- und Qualitätseigenschaften zu fusionieren, um Formen auf tetraploidem Niveau mit einem hohen Heterozygotiegrad zu erhalten, die dem Züchter als Basismaterial für die Sortenzüchtung zur Verfügung gestellt werden können.

Bei den im Jahre 1993 durchgeführten Fusionsexperimenten zur Kombination wichtiger Resistenz- und Qualitätsmerkmale wurde die Regeneration intakter Pflanzen fortgesetzt. Von den 39 kallusbildenden Kombinationen konnten bei 25 Kombinationen Regeneratpflanzen erzeugt werden. Die durchschnittliche Regenerationsrate lag bei 11 %, wobei Schwankungen von 0 bis 86 % auftraten. Die Hybridausbeute erwies sich als genotyp- und kombinationsabhängig und variierte zwischen 0,6 und 86 %. Für weitere Fusionen erfolgte die In-vitro-Etablierung und Vermehrung von dihaploiden und diploiden Formen. Darüber hinaus wurden ausgewählte Hybriden cytolo-

gisch untersucht. Die Mehrzahl der Hybriden war euploid, aber auch aneuploide Pflanzen wurden ermittelt. Die Aneuploidie äußerte sich auch phänotypisch mit unterschiedlicher Merkmalsausprägung (Abb. 1).

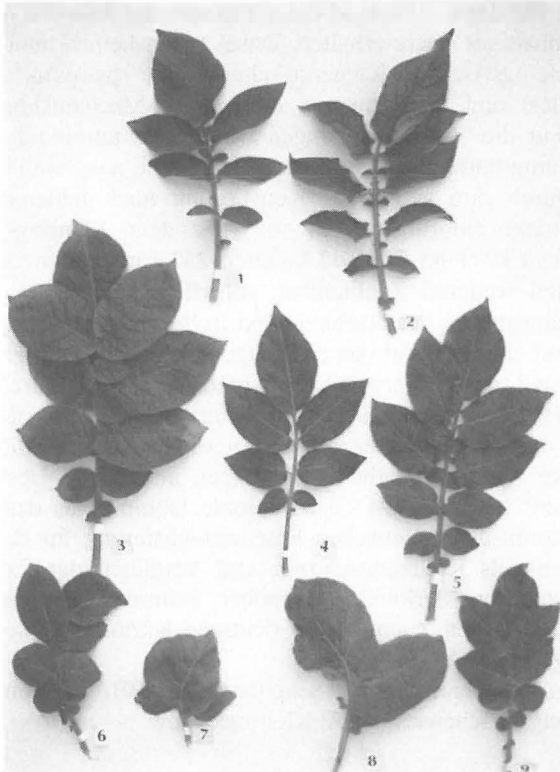


Abb. 1: Blätter von *Solanum tuberosum*, 1 - Fusionselter 6957, 2 - Fusionselter 7023, 3 - 9 somatische Hybride mit unterschiedlicher Chromosomenzahl

Die Effizienz der Valenzstufen-Bestimmung wird durch den Einsatz eines Cell Analyzers wesentlich erhöht. Die weitere Überführung neuer Regeneratpflanzen ins Gewächshaus erfolgte für erste Vegetationsbeobachtungen und Knollenerzeugung. (BAZ-3107)

In Zusammenarbeit mit: Wenzel, BAZ, Inst. f. Resistenzgenetik, Grünbach; Schilde-Rentschler, Hemleben, Univ. Tübingen

107

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.

Um Kreuzungsbarrieren zu überwinden, soll die Embryo-, Ovula-, Mikrosporen-, Pollen- und Samenkultur zur Erzeugung von Basismaterial mit hohen Resi-

stanz- und Qualitätseigenschaften für die Züchtung genutzt werden.

Es wurde eine Methode erarbeitet, die es ermöglicht, Samen und unreife Embryonen der Kartoffel nach Kreuzung züchterisch relevanter Problemkombinationen zu 'retten' und lebensfähige Pflanzen aufzuzüchten. Bei *Brassica* wurden Untersuchungen zur Desinfektion, Isolation und Transfer von Ovula und Embryonen auf geeignete Nährmedien durchgeführt. Ausgehend von 79 isolierten Embryonen aus 9 Art- und Gattungskreuzungen bei Brassicaceen wurden ca. 300 Pflanzen in vitro kultiviert und ins Gewächshaus überführt. Nach visueller Bonitur zeigten ca. 40 % der Pflanzen intermediären Charakter. (BAZ-3104)

108

2.3. Untersuchungen zur Entwicklung und Anwendung von effektiven Methoden der Identifizierung von Kartoffelhybriden - Studies on the development and utilization of effective methods for the identification of hybrids

Thieme, R.

Nutzung geeigneter Methoden zur Identifizierung von somatischen Hybriden nach Elektrofusion von Protoplasten der Kartoffel

Die nach Elektrofusion von Mesophyllprotoplasten erhaltenen Regenerate einer Vielzahl unterschiedlicher Klonkombinationen werden mittels Isoenzymanalyse auf ihren Hybridcharakter untersucht. Nach Experimenten zur Optimierung, wie der Menge und Aufschluß des Probenmaterials sowie der elektrischen Parameter wird die isoelektrische Fokussierung im pH-Bereich 3,5 bis 9,5 und Nachweis der Esterasen und Peroxidasen als Routinemethode angewendet. Die mit Extraktionspuffer versetzte Spitze einer In-vitro-Pflanze wird mit einem Homogenisator zerkleinert, zentrifugiert und auf das Gel aufgetragen. Von den im 3jährigen Fusionsprogramm enthaltenen 107 dihaploiden Klonkombinationen lassen sich 72, somit 77 %, aufgrund der Addition ihrer charakteristischen Bandenmuster als Hybriden nachweisen. Insgesamt wurden über 8000 Tests durchgeführt. Die Verwendung von speziellen Auftragebändern bei Normal- und Doppelgelen erlaubt einen gleichzeitigen Probandendurchlauf von 52 bzw. 104 Einzelproben. Die IEF wird außerdem zum Nachweis von *Avena*-Bastarden unter Verwendung verschiedener Enzymsysteme genutzt. Gegenwärtig werden die gerätetechnischen und methodischen Voraussetzungen zur Einführung der RAPD-PCR-Technik für den Hybridnachweis geschaffen. Die DNA-Isolation der zu fusionierenden Klone erwies sich als unproblematisch. Zukünftig sollen geeignete Primer zur eindeutigen Differenzierung der Elternklone ermittelt werden. (BAZ-3105)

In Zusammenarbeit mit: Seddig, BAZ, Inst. f. Streßphysiologie, Groß Lüsewitz; Gavrilenko, Vavilov-Institut, St. Petersburg, Rußland

109

Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen

Groß Lüsewitz

Das Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen hat die Aufgabe, neue Züchtungsmethoden und -strategien als Basis für die Selektion neuen Zuchtmaterials zu entwickeln. Vorrangig werden die Kulturarten Roggen, Gerste, Raps und Futtergräser bearbeitet.

1. Cytogenetik - markergestützte Selektion

1.1. Identifizierung und Differenzierung von Roggeigenschaften, insbesondere Resistenzen gegen Mehltau und Braunrost, mittels Vererbungsanalysen und Genlokalisierungen - Identification and distinction of characters of rye with special regard to resistances to powdery mildew and leaf rust, using genetic analyses and chromosomal location of genes

Effmert, B.; Scholz, M.; Linz, A.

Genetische Identifizierung von Inzuchtlinien, insbesondere mit Resistenz gegenüber Mehltau und Braunrost

Nachdem 1993 die Untersuchungen zum Mehltau vorläufig abgeschlossen wurden, standen 1994 Arbeiten zum Braunrost (*Puccinia recondita* f. sp. *secalis*) im Vordergrund.

Erste Untersuchungen zur Bestimmung des Braunrostresistenztypes erfolgten an 44 Inzuchtlinien. 12 Tage alte Keimpflanzen wurden mit Einsporisolen aus drei Herkünften inokuliert. Nach 16 Tagen erfolgte die Resistenzbewertung. Die Boniturskala reichte von "nicht befallen" (= Note 1) bis zum "Aufreten von Uredosporenlager ohne chlorotische Ringe" (= Note 6).

Bei 11 Linien weisen spezifische Wirt-Parasit-Interaktionen auf eine qualitative Resistenz hin. Einzelpflanzen, die nach Inokulation mit allen drei Isolaten befallsfrei blieben, traten bei 18 Linien auf.

In der Freilandprüfung aus einem Standort mit hohem natürlichen Infektionsdruck wurden 2 Linien ausgelesen, die hinsichtlich ihrer Braunrostresistenz homozygot sind. Bei 5 Linien traten Einzelpflanzen ohne Befall auf. Von den resistenten Linien sowie nicht befallenen Einzelpflanzen wurde Selbstungssaatgut gewonnen.

Für quantitativ genetische Studien wurde F₁-Saatgut aus Kreuzungen von 7 braunrostresistenten Linien mit 2 anfälligen ms-Linien erzeugt. Das Testkreuzungssaatgut wurde an 3 Standorten angebaut. Parallel wurden 20 Kreuzungen auch im pollenfertilen Normalcytoplasma hergestellt. Nach Selbstung der F₁-Nachkommenschaften sollen F₂-Populationen als Ausgangsmaterial zur Feststellung des Vererbungsmodus und für Markerstudien erzeugt werden.

Zur genetischen Identifizierung von 2 Braunrostresistenzquellen mittels Trisomenanalysen erfolgten Resistenztests an Blattstücken und Keimpflanzen mit einem hoch virulenten Sporengemisch. Die Pflanzen wurden zur

Feststellung der Altersresistenz ins Gewächshaus gepflanzt.

Neben dem schon etablierten Inzuchtsortiment mit Braunrostresistenz werden weitere Resistenzquellen, die überwiegend aus dem osteuropäischen Raum stammen, erschlossen. Dazu wurden aus 18 F₂-Nachkommenschaften der Kombination Braunrost- x Mehlauresistenz im Freiland 703 braunrostresistente Einzelpflanzen ausgelesen.

Selbstungssaatgut, das die Grundlage für die Auslese homozygoter Linien bildet, konnte von 102 Einzelpflanzen geerntet werden. Die stark differierenden Spaltungszahlen in den einzelnen F₂-Populationen lassen einen unterschiedlichen genetischen Hintergrund vermuten. Für künftige Markerstudien wurden Elternlinien von 14 F₂-Populationen auf Isoenzym polymorphismus getestet. In ersten Untersuchungen ließen sich für die Chromosomen 2R-7R Marker identifizieren. Für nachfolgende Markerstudien wurden von den F₂-Kreuzungsnachkommenschaften Blattproben geerntet. (BAZ-3204)

In Zusammenarbeit mit: Geiger, Univ. Hohenheim; Sperling, Univ. Halle; Wricke, Inst. f. Angewandte Genetik, Univ. Hannover; Woylokow, Biologisches Wissenschaftliches Forschungsinstitut, Abt. Pflanzengenetik, Univ. St. Petersburg, Rußland

110

2. Low-input-Forschung

2.1. Erarbeitung einer Methode zur Selektion von Einzelpflanzen auf Stickstoffeffizienz bei Winterraps und Anwendung dieser Methode zur Auslese von Genotypen mit verbesserter Stickstoffeffizienz - Development of a screening method for the selection of individual plants with nitrogen efficiency in winter rape and utilization of this method for the selection of genotypes with improved nitrogen efficiency

Gerath, H.

Es werden empfindliche und leistungsfähige Diagnose- und Frühselektionsverfahren zur Erfassung der N-Effizienz bei Winterraps erarbeitet und homozygotes Versuchsmaterial mit differenzierter N-Effizienz erzeugt. Im Untersuchungsprogramm sind weiterhin die Klärung kausaler Zusammenhänge der N-Effizienz und die Erfassung direkter und indirekter Merkmale der N-Effizienz enthalten.

Die Erfassbarkeit der N-Effizienz bei Winterraps wurde mit sechs ausgewählten DH-Linien und einer Standard-sorten in den Prüfgliedern

1. Hydrokultur bis zum 10-Blättstadium und bis zur Körnerreife;
2. Kleintopfkultur mit 700 g Erde;
3. Großtopfkultur mit 6,5 kg Erde;
4. Erdkultur mit weitem (35 cm) und engem Pflanzabstand (15 cm)

unter Gewächshausbedingungen untersucht. In jedem Prüfglied ist mit drei N-Stufen gearbeitet worden.

Anhand der jeweiligen N-Indizes konnte nachgewiesen werden, daß eine effektive Vorselektion stickstoffeffizienter Genotypen und Sorten in Hydroponikanlagen möglich ist, bei gewünschter zusätzlicher Erfassung des Habitus der Pflanze sind jedoch die aufwendigeren Mitscherlichgefäß- und Erdkulturversuche vorzuziehen. Derartige Prüfungen sind auch dann erforderlich, wenn aus Selbstungssaatgut N-effizienter Genotypen Donorpflanzen angezogen und über Mikrosporenkultur N-effiziente DH-Linien erzeugt werden, denn trotz eines signifikanten Einflusses von Genotyp und Donorpflanze auf die N-Effizienz-Ausprägung der DH-Linien bestehen zwischen den DH-Linien einer Donorpflanze gravierende Unterschiede in der N-Effizienz, die erfolgreich im Zuchtprozeß genutzt werden müssen.

An der Aufklärung von Ursachen für die unterschiedliche N-Effizienz wird mit dem Ziel gearbeitet, geeignete direkte und indirekte Merkmale für eine schnellere und möglicherweise auch ökonomischere Identifizierung N-effizienter Genotypen und Populationen zu finden. Dabei konnte festgestellt werden, daß der für die Ausschöpfung des Ertragspotentials notwendige N-Gehalt der Blätter bei den N-effizienten Typen niedriger als bei den nicht-effizienten Typen ist. Auch im N-Translokationsvermögen sind genotypspezifische Unterschiede vorhanden, die relativ einfach anhand des Rest-N-Gehaltes der abgestorbenen Blätter erkannt werden können. Je später die Blattseneszenz einsetzt und je niedriger der N-Gehalt in den frisch abgeworfenen Blättern ist, um so besser ist die N-Verwertungseffizienz. Die zweite Seite der N-Effizienz, die Aneignungseffizienz, kann zur Zeit dagegen vor allem anhand der Dynamik des Wurzelwachstums, der Saugkraft der Wurzeln und der N-Akkumulation / Zeiteinheit in Wurzel und Sproß erfaßt werden. An der Erfassung weiterer Merkmale wird gearbeitet. Darüber hinaus sind in einem zusätzlichen Projekt Untersuchungen zur Vererbung der N-Effizienz mit deren Komponenten mit Heritabilitätsschätzungen nach diallelen Kreuzungen vorgesehen. (BAZ-3210)

111

3. Resistenzforschung

3.1. Erzeugung und Identifizierung von *Hordeum vulgare*-*Hordeum bulbosum*-Additionen - Production and identification of *Hordeum vulgare*-*Hordeum bulbosum* additions

Michel, M.; Kandawa, M.; Scholz, M.

Herstellung und Identifizierung von Additionen von Hordeum bulbosum-Chromosomen an das Genom der Kulturgerste

Neben den 1993 ausgelesenen 41 15chromosomigen Pflanzen wurden weitere 82 15chromosomige Pflanzen aus Rückkreuzungen und Selbstungen tetraploider *Hordeum vulgare*-*H. bulbosum*-Bastarde erhalten. Mittels Isoenzymanalysen erfolgte ein Screening auf Anwesenheit von *H. bulbosum*-Isoenzymgenen.

Bei 34 Bastarden wurden *H. bulbosum*-Gene der Chromosomen 1 (Ep 1, Amp 3), 3 (Est 1, 2), 4 (Acp 2), 5 (Mdh 1, Pgd 2) und 6 (Aadh 4, Aat 1, Aap 1) nachgewiesen. (BAZ-3208)

In Zusammenarbeit mit: Pickering, Crop & Food Research, Christchurch, Neuseeland; Wenzel, Graner, BAZ, Inst. f. Resistenzgenetik, Grünbach

112

3.2. Charakterisierung von *Hordeum bulbosum* sowie *Hordeum vulgare*-*Hordeum bulbosum*-Bastarden hinsichtlich ihrer Resistenz gegenüber Mehltau, Zwergrost und Typhulafäule - Characterization of *H. bulbosum* and *H. vulgare*-*H. bulbosum* hybrids for their resistances to powdery mildew, brown rust of barley and typhula

Michel, M.

Die 1993 erhaltenen Ergebnisse wurden durch Freilandteste bei Mehltau und Zwergrost bestätigt. (BAZ-3209)

In Zusammenarbeit mit: Fischbeck, TU München; Mielke, BBA, Braunschweig

113

3.3. Nachweis von Introgression aus *Hordeum bulbosum* in die Kulturgerste - Evidence of introgression from *Hordeum bulbosum* into *Hordeum vulgare*

Michel, M.; Scholz, M.; Kandawa, M.

Nachweis, daß neue aus H. bulbosum stammende Gene in der Kulturgerste eingelagert wurden

Es wurden 8 Pflanzen mit Virusresistenz (BaMMV) selektiert. Die Nachkommenschaft einer virusresistenten Pflanze ergab eine Aufspaltung, die auf zwei dominante Gene hinweist. Bei drei der acht Pflanzen wurden sowohl mittels Isoenzymanalyse als auch RFLP-Analyse positive Signale für das Chromosom 6 (Aat 1, pst 167) erhalten. Eine vierte virusresistente Pflanze wies die *H. bulbosum*-Gene Est 1 und Est 2, die auf dem Chromosom 3 lokalisiert sind, auf.

Bei weiteren 47 14chromosomigen Selbstungsnachkommenschaften von *H. vulgare*-*H. bulbosum*-Bastarden wurden mittels Isoenzymanalysen *H. bulbosum*-Gene der Chromosomen 1 (Amp 3, Ep 1, Pgd 1), 3 (Est 1, 2), 4 (Adh 2), 5 (Mdh 1, Pgd 2, Acp 3, Gpe 1), 6 (Amp 1, Aadh 4, Aat 1) und 7 (Aadh 1) festgestellt. (BAZ-3216)

In Zusammenarbeit mit: Pickering, Crop & Food Research, Christchurch, Neuseeland; Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

114

3.4. Erarbeitung von Selektionsmethoden und -modellen für Kronenrostresistenz bei *Lolium*-Arten - Development of models and methods for the selection for crown rust resistance in *Lolium* species

Lellbach, H.

Ermittlung von Selektionsparametern unter künstlichen und natürlichen Infektionsbedingungen und Vorhersage des genetischen Gewinns

Der Blattstückentest zur Erfassung der Resistenzreaktion der Einzelpflanzen von Linien oder Klonen wurde auf seine Reproduzierbarkeit untersucht. Es stellte sich heraus, daß die mit diesem Test im Labor erfaßten Resistenzunterschiede sich im Freiland unter natürlichen Infektionsbedingungen weitgehend bestätigten. Dadurch ist eine wichtige Voraussetzung für Selektionsuntersuchungen geschaffen worden. Die Prüfung von 27 diploiden und 19 tetraploiden Selbstungsnachkommenschaften ergab eine Differenzierung von 0 bis 67 (prozentualer Anteil resistenter Genotypen). Diese Differenzierung steht in Beziehung zur phänotypischen Resistenzausprägung (keine oder schwache Resistenzreaktion = niedriger Anteil, starke Resistenzreaktion = hoher Anteil). (BAZ-3205)

In Zusammenarbeit mit: Posselt, Landessaatzuchtanstalt Stuttgart/Hohenheim; Wilkins, Institute of Grassland and Environmental Research, Aberystwyth, UK

115

3.5. Nutzbarmachung vorhandener und neu zu erschließender genetischer Variabilität zur Verbesserung der Resistenz gegen *Puccinia coronata* bei *Lolium*-Arten - Utilization of existing and new genetic variability for improving the resistance to *Puccinia coronata* in *Lolium* species

Lellbach, H.

Analyse der genetischen Variabilität der Krankheitsresistenz und Nutzung für die Erzeugung resistenter Linien

Von 410 Ökotypen der Genbank Malchow konnten 4 mit Resistenz gegen Kronenrost ausgelesen werden. Sie zeigten in ihren Nachkommenschaften einen überdurchschnittlichen Anteil resistenter Genotypen. Es erfolgt eine systematische Prüfung von weiteren 400 *Lolium*-Herkünften aus den osteuropäischen Ländern mit dem Ziel der Auslese resistenter Ökotypen. Die zu prüfenden Ökotypen werden durch die Genbank Malchow in Form von Samen zur Verfügung gestellt.

Auf der Grundlage resistenter in- und ausländischer Sorten wurden je 300 Genotypen von 12 Varietäten (*Lolium perenne* und *L. multiflorum*) auf Resistenz geprüft. Der Anteil ausgelesener Genotypen war unterschiedlich. Es erfolgte die Auspflanzung der resistenten Pflanzen ins Freiland zur Prüfung unter natürlichen Infektionsbedingungen. Dabei wiesen die Sorten 'Flair' und 'Barcredo' den höchsten Anteil resistenter Genotypen auf. (BAZ-3214)

In Zusammenarbeit mit: Willner, Genbank, Malchow
116

3.6. Untersuchungen zur Vererbung der Merkmale "Ertrag", "Trockensubstanzgehalt" und "Puccinia coronata-Resistenz" dialleler Nachkommenschaften bei di- und tetraploiden *Lolium*-Arten - Investigations on the inheritance of yield, dry matter and resistance to *Puccinia coronata* using diallelic progenies of di- and tetraploid *Lolium* species

Lellbach, H.

Schätzung der Heritabilität und der genetischen Varianz in Beziehung zur Umweltvarianz durch Prüfung an mehreren Orten und in mehreren Jahren

Auf der Grundlage der Auslese homozygoter resistenter Genotypen und selbstfertiger Klone von *Lolium perenne* und *L. multiflorum* sind diallele Kreuzungen durchgeführt worden. Die Anzahl der durchgeführten Kreuzungen und der erzeugten Samenmengen je Kombination genügen noch nicht den Anforderungen einer auswertbaren Blockanlage im Freiland. Dazu sind weitere ergänzende Kreuzungen, die sowohl im Gewächshaus als auch im Freiland durchgeführt werden, notwendig.

Ausreichende Samenmengen wurden in einem Topcross, angebaut in 30 Isolierstellungen, von 2n- und 4n-Klonen erzeugt. Mit diesem Material können erste quantitative genetische Parameter geschätzt werden. (BAZ-3215)

117

Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität

Groß Lüsewitz

Das Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität hat die Aufgabe, züchtungsrelevante Methoden zur Erfassung der Toleranz gegen abiotische Streßfaktoren, der Nährstoffeffizienz und der biologischen Rohstoffqualität landwirtschaftlicher Kulturarten zu erarbeiten.

1. Streßphysiologie

1.1. Beziehungen zwischen morphologisch-anatomischen sowie biochemischen Parametern und dem Ertrag unter Trockenstreß in verschiedenen Entwicklungsphasen der Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.) - Relations between morphologic-anatomical and biochemical parameters and yield under drought stress in different developmental stages of the potato (*Solanum tuberosum* L.)

Balko, C.; Seddig, S.; Jürgens, H.-U.

Es soll idiotypische Variabilität in der Reaktion auf gezielten Trockenstreß nachgewiesen werden mit dem Ziel der Entwicklung von Kriterien bzw. Methoden für eine Selektion auf Trockenstreßtoleranz.

In Ergänzung zu den in den vergangenen Jahren durchgeführten Gefäßversuchen wurde 1994 ein im Jahre 1993 im Feld angelegter Ertragsversuch wiederholt. Dabei wies die Vegetationsperiode 1994 gegenüber 1993 ein deutlich höheres Niederschlagsdefizit auf, das sich in Ertragsminderungen (9,3 bis 50,7 %) vor allem infolge Trockenstreß widerspiegelte. Es bestätigten sich in weitgehender Übereinstimmung mit Gefäßversuchen Idiotypen mit höheren Ertragsverlusten und Idiotypen, die weniger sensibel auf Wassermangel reagierten. Ein vorläufiges Indikatort Sortiment, bestehend aus 7 Idiotypen mit deutlichen Unterschieden in der Reaktion verschiedener Merkmale auf Trockenstreß wurde im Ergebnis zusammengestellt. Weiterhin wurde dieses Sortiment hinsichtlich seines Stickstoffgehaltes (Blatt, Knolle) charakterisiert. Durch die Erfassung verschiedener Stickstoffwerte (Gesamt-N, Rohprotein, Reinprotein) kann u.a. die Konzentration freier Aminosäuren näherungsweise erfaßt werden. Diese nimmt unter Streßbedingungen in den toleranten Idiotypen am stärksten zu bzw. die Konzentration des Reinproteins am stärksten ab. Korrelationen zur Wasserkonsumtion und Ertragsparametern konnten nachgewiesen werden. In einem Labortest, der eine starke Streßwirkung über einen kurzen Zeitraum realisiert, sollen diese Korrelationen überprüft sowie die Akkumulation von Prolin und löslichen Zuckern als indirekte Selektionskriterien untersucht werden. Die hierbei anfallende große Zahl an Proben wird mit Hilfe entsprechender Bestimmungsmethoden analysiert. (BAZ-3309)

118

1.2. Untersuchungen zur In-vitro-Selektion auf Trockentoleranz bei der Kartoffel (*Solanum tuberosum* L.) - Investigations on in vitro selection for drought tolerance in potato (*Solanum tuberosum* L.)

Balko, C.

Anhand von Idiotypen, die sich in vivo in ihrer Trockentoleranz unterscheiden, sollen Kulturbedingungen erarbeitet werden, die diese Toleranz in der In-vitro-Phase widerspiegeln und damit eine In-vitro-Selektion auf Trockentoleranz erlauben.

Die letztjährigen Versuche zur Selektion auf Medien mit Sorbitol, Mannitol, NaCl und Hydroxyprolin in verschiedenen Konzentrationen wurden mit den Sorten 'Desiree' und 'Kennebec' wiederholt und die Ergebnisse im wesentlichen bestätigt. Dabei erwies sich der verwendete TTC-Test auf Grund der großen Streuung der Werte als nur bedingt aussagefähig. Aus hydroxyprolintoleranten Kalli regenerierte Pflanzen wurden erneut einem Streß durch erhöhte Hydroxyprolinkonzentrationen im Medium ausgesetzt und zeigten z.T. ein besseres Wachstum als die Kontrollpflanzen, die dem gleichen Streß ausgesetzt waren. Analog reagierten Pflanzen aus Kalli, die auf Medien mit hohen Sorbitolkonzentrationen selektiert worden waren. Inwieweit es sich dabei um eine Modifikation oder um eine echte Mutation handelt, kann nur anhand der Nachkommenschaften dieser Pflanzen festgestellt werden. Bei der Erarbeitung des Kultursystems wurde der bisher verwendeten Suspensionskultur die Kallusprimäraufschwemmung gegenübergestellt. Damit war eine Regeneration aus kleinen Zellaggregaten, wie sie für eine Selektion erforderlich sind, bei 10 von 10 getesteten Idiotypen erfolgreich, bei Suspensionen dagegen nur bei 4 Idiotypen. Darüber hinaus erfolgte die Regeneration in höheren Frequenzen und nach kürzeren Zeiträumen (9 bis 12 Wochen nach Ausplattierung), so daß dieses Kultursystem zukünftig bevorzugt wird. Kallusprimäraufschwemmungen der Sorten 'Desiree' (tolerant), 'Mirka' (sensibel) und 'Kennebec' werden gegenwärtig Wassermangelstreß durch Sorbitol im Medium (a) während der Wachstumsphase sowie (b) während der Regenerationsphase ausgesetzt und Kalluswachstum sowie Pflanzenregeneration untersucht. (BAZ-3310)

119

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 Wintergerste

Ausgehend von 33 Pflanzen, die im vergangenen Jahr aus hydroxyprolinresistenten Kalli der Sorte 'Igri' regeneriert werden konnten, wurden 8 Pflanzen mit der höchsten Frosttoleranz ausgewählt und deren Selbstungsnachkommenschaften im Leitfähigkeitstest z.T. wiederholt auf ihre Frosttoleranz getestet. Dabei konnten Nachkommenschaften gefunden werden, die eine deutlich größere Streuung in der LT_{50} aufwiesen als die Kontrollregenerate. Von ausgewählten Pflanzen dieser Nachkommenschaften wurden wiederum Selbstungsnachkommenschaften erzeugt, deren Frosttoleranz gegenwärtig untersucht wird, um zu beurteilen, ob ein Mutationsereignis vorliegt oder es sich um eine Modifikation handelt. (BAZ-3322)

In Zusammenarbeit mit: Dörffling, Univ. Hamburg
120

1.4. Änderungen in den Elektrophoresemustern der löslichen Proteine in Kartoffelgenotypen als Reaktion auf Trockenstreß - Changes in the electrophoretic pattern of soluble proteins in potato genotypes as response to drought stress conditions
Seddig, S., Balko, C.

Es wird geprüft, inwieweit die bei Trockenstreß auftretenden Streßproteine und die Veränderungen in den Isoenzymustern als Marker für eine Selektionsmethode geeignet sind.

Kartoffelsorten bzw. -zuchtstämme, die sich hinsichtlich ihrer Trockenstreßtoleranz unterscheiden, wurden in einem Gefäßversuch mit verschiedenen Wasserkapazitäten des Bodens geprüft. Die Blatt- und Knollenextrakte der löslichen Proteine wurden elektrophoretisch auf Veränderungen der Protein- und Isoenzymmuster hin untersucht. Unter Streßbedingungen traten zunächst in den Blattextrakten der als tolerant eingestuften Sorten 'Trockenstreßproteine' auf, während in den sensiblen erst nach längerer oder stärkerer Streßwirkung eine Veränderung der Proteinmuster zu beobachten war. Das Auftreten von Trockenstreßproteinen ist damit nicht zwingend ein Zeichen für Toleranz, aber unter geeigneten definierten Bedingungen sollte eine Selektion der toleranten Idiotypen möglich sein. In den Knollenextrakten konnten keine Streßproteine nachgewiesen werden, dagegen zeigten sich aber Veränderungen in den Mustern, vorrangig solcher Isoenzyme, die im Glykolyseabbau und im Pentosephosphatzyklus wirksam werden. Um den Zeitpunkt einer möglichen Selektion vorzulegen und nicht auf das Vorhandensein von Knollen angewiesen zu sein, soll in einem Labortest überprüft werden, ob diese Isoen-

zymänderungen auch in den Blättern sensibler Idiotypen durch Streß mit hoher PEG-Konzentration zu initiieren sind. (BAZ-3313)
121

1.5. Entwicklung einer automatischen Bestimmungsmethode für Prolin in Wintergerste zur Beurteilung der Streßtoleranz von Zuchtmaterial auf Winterhärte - Development of an automatic method for proline determination in winter barley to evaluate the stress tolerance of breeding material to winter hardiness
Jürgens, H.-U.

Die Sicherung eines notwendigen Niveaus der Winterfestigkeit unter den jeweiligen ökologischen Bedingungen ist ein vordringliches Zuchtziel bei der Schaffung von Sorten des Wintergetreides zur Erhöhung der Ertragsstabilität. Daraus resultieren Bestrebungen, Labormethoden zur Prüfung der Winterfestigkeit zu entwickeln, die es dem Züchter ermöglichen, eine Beurteilung von Zuchtmaterial vorzunehmen, die unter natürlichen Bedingungen nicht in jedem Jahr gegeben sind.

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 ein bereits charakterisiertes Gerstensortiment ausgewählt. Die automatische Bestimmung von Prolin erfolgte am luftsegmentierten kontinuierlichen Fließautomat mit PC-gesteuerter Datenerfassung und Auswertung. Als Reagenz diente eine stark saure Ninhydrin-Lösung mit organischem Lösungsmittel zur Verhinderung der Ausfällung des sich bildenden Farbkomplexes. Das hier beschriebene Verfahren ermöglicht einen Durchsatz von 50 bis 60 Proben in der Stunde. 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 "Handmethode", liegen aber im Durchschnitt um $5 \mu\text{g} / 100 \text{ mg}$ 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 bis 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. (BAZ-3306)

122

- 1.6. Entwicklung einer Bestimmungsmethode für Abscisinsäure (ABA) in Wintergerste zur Beurteilung der Streßtoleranz von Zuchtmaterial auf Winterhärte und Auswuchsresistenz**
- Development of a method for the determination of abscisic acid (ABA) in winter barley to evaluate the stress tolerance of breeding material to winter hardiness
 Jürgens, H.-U.

Für die Untersuchung von Getreide hinsichtlich seiner Frosttoleranz und Auswuchsresistenz wird ein auf die vorhandene Technik abgestimmtes Verfahren zur Bestimmung von Abscisinsäure (ABA) in Pflanzenmaterial als allgemeinen Streßmarker entwickelt und getestet.

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, Ackerbohnen und Wintergerste soll Abscisinsäure bestimmt werden. Durch die in der Pflanze vorliegenden sehr geringen Konzentrationen müssen umfangreiche Reinigungs- und Anreicherungsschritte vorgenommen werden, die durch eine große Empfindlichkeit gegenüber Enzymen und Luftsauerstoff erschwert werden. Besondere Bedeutung kommt deshalb der Extraktion und Anreicherung des Analyten zu. Eine Vorreinigung wurde durch Partitionierung und Reversed Phase-Chromatography mit anschließender Aufkonzentrierung durch präparative Chromatographie und Festphasenextraktion vorgenommen. Die Analyse von ABA erfolgte bisher mit der Ionenpaar-Chromatographie und soll durch die Anschaffung neuer Geräte mit der empfindlicheren und spezifischeren GC verbessert werden. (BAZ-3305)

123

2. Biologische Rohstoffqualität

- 2.1. Quantitative Bestimmung des Stärke-, Amylose- und Amylopektin gehaltes von Erbsen**
- Quantitative determination of starch, amylose and amylopectin in peas
 Flamme, W.

Im Unterschied zu den Stärken anderer heimischer Stärkepflanzen weisen Pal- und besonders Markerbsen erhöhte Amylosegehalte in der Stärke auf. Erbsenstärken sind deshalb für die Herstellung von Bioplasten und

speziell von Folien von Interesse. Für die Züchtung von Amyloseerbsen mit hohem Stärkegehalt wurden Analysemethoden zur Bestimmung des Rohstoff- und Stärkegehaltes und der Qualität entwickelt und an einem Arbeitssortiment (n = 25) erprobt.

Vom Rohstoff - Erbsenschrot bzw. -mehl - wurde mit klassischen Methoden der Gehalt an Stärke (polarimetrisch), Protein (nach Kjeldahl), Zuckern (Kaliumhexacyanoferrat (III), Kohlenhydraten (Anthon/Schwefelsäure) und Pentosane (Orcinol/Salzsäure) bestimmt. Das Verfahren der Stärkegewinnung im Labor mit Erbsenvollschrot wurde hinsichtlich der Genauigkeit und Reproduzierbarkeit der Ausbeuten und der Stärken verbessert. Das ist von Bedeutung, da das Amylose-Amylopektin-Verhältnis, 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. Durch Übertragung der Indikatorreaktionen auf moderne Photometer, Spektrometer bzw. Titrationsautomaten stehen züchtungsrelevante Methoden zur Verfügung. Mit dem Einsatz von lösungsmittelfesten und druckstabilen Molsieben, Dimethylsulfoxid als Lösungsmittel und Eluent, einem RI-Detektor zur massenspezifischen Erfassung der getrennten Stärkekomponenten, wurde eine analytische Trenntechnik entwickelt, die neben dem Amylose-/Amylopektin gehalt auch Aussagen über die thermische Stabilität des Amylopektins ermöglicht. Die gewonnenen Substrate (Schrote, Mehle, Stärken) und Analysendaten wurden zur Kalibration eines NIR-Spektrometers verwendet. Während die Rohstoffzusammensetzung (Stärke, Protein, ...) mittels NIR an Schrot (Mehl) gut bestimmbar ist, sind die Parameter der Stärkequalität (Amylose, Amylopektin, Korngröße) nur zugänglich, wenn zur Kalibrierung des NIR-Gerätes und zur Messung isolierte Stärken eingesetzt werden. Die analytischen Arbeiten konzentrieren sich deshalb zukünftig auf die Amylosebestimmung am Rohstoff und die quantitative Isolierung von Stärken auch mit geringen Rohstoffmengen (≤ 10 g). (BAZ-3307)

In Zusammenarbeit mit: Odenbach, FU Berlin

124

- 2.2. 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.

Zur Verbesserung der Ausbeuten und der Qualität der Getreidestärken wurden züchtungsrelevante Methoden adaptiert bzw. entwickelt. Auf der Basis dieser Analytik wurden aktuelle Sorten geprüft, Genbankmaterial von

Roggen und Triticale analysiert und Formen mit verändertem Enzymstatus, Pentosangehalt und veränderten Stärkeeigenschaften selektiert.

Ausgewählte Sorten und Stämme wurden mit gestaffelten Terminen geerntet und der Einfluß des Genotyps und des Reife- und Auswuchsgrades auf die Stärkegewinnung geprüft. Während eine frühe Ernte geringen Einfluß auf Stärkegehalt, -ausbeute und -qualität hatte, führte Auswuchs zu deutlichen Minderungen der Stärkeausbeute. Bei Gerste wurde die Rohstoff- und Stärkequalität von amylose- (ae) bzw. amylopektinreichen (waxy) Formen und bei Roggen und *Triticale*-Sippen aus der Genbank Gatersleben untersucht. Aus dem Formenkreis "Gülzower Kurzstrohroggen" mit guter Eignung zur low input-Produktion und Resistenz gegen Mehltau und Braunrost wurden Populationen mit hohem TKG, guter Auswuchsfestigkeit, extrem hoher bzw. niedriger Alpha-Amylaseaktivität zum agrotechnisch optimalen Erntezeitpunkt entwickelt. Aus diesen Teilpopulationen wurden Einzelpflanzen mit geringem Pentosangehalt und geringer Schleimstoffviskosität selektiert, um die industrielle Verwertbarkeit und den Futterwert von Roggen zu erhöhen. (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

125

2.3. Erstellung von in ihren Anbaueigenschaften verbesserten Gerstengenotypen mit verändertem Amylose-/Amylopektin Gehalt und analytischer Vergleich ihrer Stärken in Hinblick auf ihre spätere industrielle Verwertung - Breeding of barley genotypes with improved suitability for cultivation and with changed amylose and amylopectin contents, an analytical comparison of their starches with regard to a later industrial use

Flamme, W.

Aufbauend auf ein Arbeitssortiment von 'ae'- und 'waxy'-Mutanten soll leistungsfähiges Basismaterial mit Amylosegehalt um 50 % und Amylopektin > 95 % entwickelt werden. Stärkeisolation, analytische Verfahren und der Anbauumfang sollen für Züchtung, Anbau und Verarbeitung verwertbare Ergebnisse liefern.

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 Quellungs- und Verkleisterungseigenschaften, Viskosität des Kleisters, Löslichkeit, enzymatische Abbaubarkeit und die Verarbeitbarkeit zu Folien und deren Eigenschaften. In der ersten Phase werden Methoden entwickelt bzw. adaptiert, die es gestatten, Rohstoff- und Stärkequalität und Stärkeausbeuten unter Berücksichtigung der Nichtstärkepolysaccharide serienmäßig zu erfassen. Geprüft wird gegenwärtig die Rohstoff- und Stärkequalität

der Stärkemutanten im Vergleich zu aktuellen Sommer- und Wintergerstensorten. (BAZ-3328)

126

2.4. 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 quality of rye, valuation of genetical parameters and breeding of basic material with improved quality

Flamme, W.

Angestrebt wird eine Veränderung der Amylaseaktivität und des Pentosangehaltes an ausgewählten Linien des 'Gülzower Kurzstrohroggens'. Damit soll Roggen einmal als Malzsubstitut z.B. bei der Herstellung von Ethanol im Kaltmaisverfahren einsetzbar werden, zum anderen sollen durch die Veränderung der Wasseraufnahme, der Quellung und der Schleimstoffviskosität die Backqualität, der Futterwert und die industrielle Verwertung auf züchterischem Wege verbessert werden.

Roggen verlangt, vor allem bedingt durch den relativ hohen Gehalt an Pentosanen (viskosen Arabinoxylanen) und das Fehlen von Kleber im Vergleich zum Weizen, veränderte Verfahren der Vermahlung und des Backens und hat deutliche Nachteile im Futterwert (Toxizität) und bei der industriellen Verarbeitung. Analytisch sollen die Amylaseaktivität, der Pentosangehalt, die Schleimstoffviskosität und die Quell- und Verkleisterungseigenschaften von Roggen, Roggenschrot, -mehl und -stärke erfaßt und über die Selektion von Einzelpflanzen isogene Linien für die Hybridzüchtung erstellt werden. Ziele sind die Erhöhung des Autolysepotentials, Veränderung des Wasserbindungsvermögens, des Quellvermögens, der Schleimstoffviskosität und der Verkleisterungseigenschaften zur Verbesserung der Backqualität, des Futterwertes und der industriellen Verwertbarkeit von Roggen. Mit geeigneten modifizierten Methoden und Geräten werden dazu die oben aufgeführten Parameter an Einzelpflanzen aus dem 'Gülzower Kurzstrohroggen', der Populationen mit verbesserten Resistenzeigenschaften und veränderter Morphologie des Kornes (TKG, Hektolitergewicht, Kornlänge) enthält, bestimmt und mit dem Aufbau isogener Linien begonnen. (BAZ-3327)

127

2.5. Transfer und Expression von Genen pektinolytischer Enzyme in die Pflanze (Kartoffel als Modell) - Transfer and expression of genes encoding pectinases in plants (potatoes as a model)

Wegener, C.

Pflanzeneigene Pektinasen können durch einen partiellen Abbau von Zellwandpektinen eine Herabsetzung der interzellularen Kohäsion und damit eine Gewebeauflockerung während der Reifung und Lagerung bewirken. Der Transfer von Fremdgenen derartiger Enzyme in die Pflanze und ihre gesteuerte Expression soll es ermögli-

chen, die Lager- und Verarbeitungseignung des pflanzlichen Materials durch enzymatische Veränderung der Gewebestruktur gezielt zu beeinflussen.

Das Gen einer Pektatlyase (PL), welche bevorzugt Pektine der pflanzlichen Mittellamelle abbaut, ist in die Kartoffel ('Desiree') übertragen worden. Erste transgene Pflanzen wurden im Gewächshaus angezogen. Phänotypische Veränderungen im Bezug auf Wachstum und Knollenbildung sind nicht beobachtet worden. Die transgenen Kartoffelknollen wurden hinsichtlich Enzymproduktion und -wirkung getestet. Die PL wird intrazellulär produziert und in den Zellen akkumuliert. Erst nach Wundsetzung wird das Enzym freigesetzt und aktiv. Es kommt an den Wundflächen zu der gewünschten Auflockerung des Gewebes. Im Zellsaft sind PL- Aktivitäten bis zu max. 0,3 U/ml in Abhängigkeit vom Promotor und der transgenen Linie nachweisbar. Transgene Knollen, in denen das Enzym-Gen unter der Kontrolle des Patatin-Promotors (knollenspezifische Genexpression) exprimiert wird, weisen in der Regel höhere PL-Aktivitäten auf als die unter der Kontrolle des 35 S-Promotors. In einem ersten Schritt ist damit der Nachweis erbracht, daß eine bakterielle PL in der Kartoffel direkt produziert werden und als pektinolytisches Enzym aktiv werden kann. Weitere Genkonstruktionen werden sich anschließen, um letztlich eine gezielte Steuerung der Genexpression zu erreichen. Darüber hinaus wird die Auswirkung der Expression des PL-Gens auf die Geweberesistenz gegenüber *Erwinia carotovora*, dem Erreger der Schwarzeibigkeit und Knollenaßfäule der Kartoffel, geprüft. (BAZ-3311)

In Zusammenarbeit mit: v. Wettstein, Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, Dänemark; Willmitzer, Inst. f. Genbiologische Forschung, Berlin

128

2.6. Charakterisierung von Genen zellwandlytischer Enzyme aus *Erwinia carotovora* und deren Expression in alternativen Wirten - Characterization of *Erwinia carotovora* genes encoding cell wall degrading enzymes and their expression in alternative hosts

Wegener, C.; Bartling, St.

Erwinia carotovora zählt zu den wirtschaftlich bedeutendsten Erregern von Krankheiten der Kartoffel. Die Charakterisierung der Gene seiner zellwandabbauenden Enzyme, vor allem der Pektinasen und Cellulasen, ist eine wesentliche Voraussetzung für die Entwicklung neuer Strategien in der Resistenzforschung. Darüber hinaus wären die rekombinanten Proteine dieser Enzyme nutzbar, um in speziellen biochemischen Methoden Zusammensetzung und Struktur der Zellwände von pflanzlichen Geweben zu charakterisieren.

Die Pektatlyasen (PL) 1, 2, und 3 wurden mittels *Escherichia coli* (pT 7-7) produziert und als gereinigte rekombinante Enzyme hinsichtlich ihrer Wirkung an Pektinen mit unterschiedlichem Veresterungsgrad sowie an Kartoffelknollen- und -blattgewebe getestet. Entgegen den Erwartungen zeigte sich, daß alle drei PL Pektine mit einem Veresterungsgrad (VE) von 31 % effektiver depolymerisierten als Polygalacturonsäure und sogar an Pektinen mit einem VE von 68 % noch wirksam waren. Pektine mit einem VE von 93 % hingegen wurden nicht abgebaut. Alle PL-Isoenzyme mazerierten Blatt- wie auch Kartoffelknollengewebe, wobei sie sich in ihrer Mazerationsaktivität unterschieden. Darüber hinaus wurden an Kartoffelknollen deutliche Sortenunterschiede hinsichtlich der enzymatischen Abbaubarkeit des Gewebes festgestellt. So entwickelte die PL 1 am Gewebe der Sorte 'Adretta' eine um 50 % höhere Mazerationswirkung als an dem der Sorte 'Desiree'. Die PL 2 und PL 3 hingegen waren am Gewebe der Sorte 'Bintje' am aktivsten während das Gewebe der Sorte 'Adretta' ihrer Wirkung am wenigsten zugänglich war. Offensichtlich ist dies auf sortentypische Unterschiede im Gehalt, dem Veresterungsgrad und der Vernetzung der Pektinstoffe mit anderen Zellwandkomponenten zurückzuführen. Eine synergistische Wirkung der PL-Isoenzyme in der Gewebemazeration konnte nicht festgestellt werden. Neben den pektinolytischen Enzymen wird gegenwärtig eine Endo-1,4- β -Glucanase, die mittels *E. coli* bzw. *Pichia pastoris* (Hefe) als rekombinantes Enzymprotein produziert wird, hinsichtlich ihrer Wirkung an pflanzlichen Zellwänden getestet.

In Zusammenarbeit mit: v. Wettstein, Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, Dänemark

129

Institut für Resistenzgenetik

Grünbach

Ziel der Arbeiten des Instituts für Resistenzgenetik ist die Züchtung dauerhaft gesunder landwirtschaftlicher Kulturpflanzen. Als Voraussetzung dafür wird 1. Basismaterial mit Resistenz gegen biotische Schaderreger und dessen genetische Grundlage ermittelt, 2. werden Selektionstechniken vor allem für quantitativ vererbte Resistenz entwickelt und 3. wird mit klassischen Züchtungsmethoden, mit Zellkulturtechniken und Verfahren der Molekulargenetik dauerhaft resistentes Ausgangsmaterial als Grundlage für die an anderer Stelle durchgeführte Sortenzüchtung erstellt.

1. Klassische Züchtungsmethoden

Im Rahmen der klassischen Züchtungsarbeiten auf Resistenzeinlagerung in den Weizen werden in Grünbach bei Weizen auch umfangreiche Prüfungen für das Bundesortenamt zur Ermittlung von *Fusarium*- und *Septoria*-Resistenz durchgeführt.

1.1. Züchterischer Aufbau von quantitativen Resistenzen in Weizen gegen *Septoria nodorum* - Breeding of wheat with quantitatively inherited resistance to *Septoria nodorum*

Walther, H.

*Ziel dieser Kreuzungsversuche ist es, Weizenlinien mit hoher Resistenz gegen den Schadpilz *Septoria nodorum* bzw. gegen mehrere Schadpilze gleichzeitig (*Septoria nodorum* und *Fusarium culmorum*) zu züchten.*

Die aus den Vorjahren ermittelten guten Abhängigkeiten von Resistenzbewertungen bei *Septoria nodorum* (SN) und *Fusarium culmorum* (FC) mit dem Ertragsverlust bzw. mit den Ertragskomponenten 'Einzelährengewicht' (EÄG) und 'Tausendkorngewicht' (TKG) haben zu einer Weiterentwicklung des Konzeptes der multiplen Resistenzauslese in Kreuzungsprogrammen mit spaltenden Nachkommenschaften geführt. Erstmals wurden die Nachkommenschaftsreihen (F₃) bzw. die Parzellenprüfungen (F₄ bis F₇) bei simultanen SN+FC-Infektionen auf beide Resistenzen gemeinsam geprüft. Die gleichzeitige Auslese auf Befall gegen beide Schadpilze wird bei entsprechend gestaffelten Infektionen dadurch möglich, daß SN mit dem überwiegenden Schadbild auf dem Blatt und FC mit Symptomen nur auf der Ähre gut zu differenzieren sind. Der Ährenbefall durch SN läßt sich ebenfalls von den FC-Ährensymptomen bis kurz vor Ernte gut trennen. Die simultane Infektionstechnik und die multiple Resistenzauslese haben bei der Selektionsprüfung folgende wesentlichen Vorteile:

1. Werden die Resistenzgene gegen mehrere Pathogene in den Nachkommenschaftsprüfungen gleichzeitig erfaßt.
2. Werden die Wechselwirkungen von SN und FC untereinander und ihr gemeinsamer Einfluß auf den Ertragsverlust unter realen Bedingungen bestimmt.
3. Wird der Selektionsaufwand wesentlich vermindert, bei gleichzeitiger Steigerung der Selektionseffizienz.

Bei sequentiellen Auslesezyklen werden 3 Selektionsprogramme nacheinander benötigt (SN, FC, SN+FC), bei der multiplen Resistenzauslese jedoch nur ein einziges Selektionsprogramm (SN+FC). Der verminderte Aufwand schlägt sich nieder in weniger Selektionsjahren, weniger Versuchsfläche, weniger Zeitaufwand und weniger Inokulum.

4. Wird die multiple Resistenzauslese mit einer jährlichen Mehrstufenselektion gekoppelt; dies erhöht die Effizienz in der Auslese zusätzlich. Dabei werden neben der epidemiologischen Befallsentwicklung (mehrere Befallsbonituren) der Ertragsverlust und nach Ernte die Ertragskomponenten EÄG und TKG mit in die Auslese einbezogen.
5. Wird auf mehrere quantitative Resistenzen gleichzeitig selektiert; dabei werden auch die Resistenzgene, die gegen mehrere Schaderreger in bestimmten Phasen des Wachstums gleichzeitig wirksam sind, ihrer funktionellen Bedeutung entsprechend gewertet.

Jede Selektionstechnik kann jedoch nur erfolgreich sein, wenn es gelingt, aus genetisch ausreichend verschiedenen Eltern eine genetische Varianz herzustellen, mit der ein Selektionsfortschritt möglich wird. In diesem Prüfjahr wurden daher zweidimensionale Variationsverteilungen in Feldprüfungen mit unterschiedlichen Weizenpopulationen untersucht.

Auf der ersten Stufe wurden Linien verschiedenster züchterischer Herkunft (BSA-Prüfung) getrennt auf SN- und FC-Befall untersucht, um zu ermitteln, ob ausreichende Resistenzvarianzen vorliegen. Die vom Populationsmittel im Plus-Bereich signifikant abweichenden Genotypen lagen mit 30/121 bei einer Selektionsrate von 25%. Diese Linien sind also nach beiden Resistenzmerkmalen als besser einzustufen, wobei die Mittelwerte der Population bei 39,8% FC-Befall und bei 41,6% SN-Befall lagen. Unter diesen weitgehend kontrollierten Feldversuchsbedingungen lagen die besten Genotypen aber immer noch bei etwa 20% FC-Befall und bei 30% SN-Befall, woraus die Notwendigkeit einer weitergehenden gezielten Resistenzzüchtung erkennbar wird.

Noch interessanter ist aber der Vergleich der multiplen Resistenzwerte mit den unter nichtinfizierten Bedingungen erzielbaren Ertragsleistungen. Die genetische Streuung dieser beiden Parameter stellt genau das allgemeine züchterische Selektionsziel von Ertragsleistung und Gesamtresistenz dar. Ein Versuch zur Ermittlung dieser

bivariaten Streuung wurde mit 196 Genotypen durchgeführt und ergab eine signifikante Selektionsrate von 24%. Damit ist auch bei gleichzeitiger Auslese auf Ertrag und multipler Resistenz ein Selektionsfortschritt möglich. Ein ähnliches Ergebnis wurde in zwei weiteren Versuchen mit 60 vorausgelesenen Linien und 168 Zuchtstämmen ermittelt, mit einer signifikanten Auslese-rate von 33%. (BAZ-7125)

130

1.2. Züchterischer Aufbau von quantitativen Resistenzen in Weizen gegen *Fusarium culmorum* (Ährenfusariose) - Breeding for quantitative resistance to *Fusarium culmorum* (ear scab) in wheat

Walther, H.

*Es wird durch gezielte Kreuzungszüchtung Weizen-Basismaterial erstellt, das gegen den Schadpilz *Fusarium culmorum* hohe Resistenzen besitzt.*

Der in den Vorjahren erarbeitete Resistenztest für Feldprüfungen, aufbauend auf der Differenzmethode in Korrelation zum Ertragsverlust als Bezugsgröße, wurde im Berichtsjahr bei einer Reihe von Versuchen angewendet. Nach homogener Sprühinfektion im Feld wurden Infektionsverläufe auf unterschiedlicher Parzellenbasis verfolgt und Befallswerte epidemiologisch ermittelt (Tab. 1).

Tab. 1: Materialzusammenstellung für die Resistenzermittlung von Weizen gegenüber *Fusarium culmorum*

Parzellengröße	Befall	Zahl der Genotypen	Materialart
1,2 m ²	15-70%	121	BSA-Prüfung
1,6 m ²	8-65%	196	Vorstufen
2,2 m ²	6-63%	60	eigene Stämme
4,8 m ²	7-70%	168	Leistungsprüfung

Für die Resistenzermittlung bot dieses breite Material gute Voraussetzungen: so war die erfassbare Restvarianz für eine erfolgreiche Selektion ausreichend groß, wobei die Bewertung auch in den kleinen Parzellen möglich war und beste Stämme unter einer Befallsgrenze von 10% lagen. Aus Prüfungen des eigenen Zuchtprogrammes konnten 15 resistenzverbesserte Stämme an Züchter weitergegeben werden, wobei diese Stämme neben den besseren FC-Werten auch höhere SN-Resistenzen aufwiesen. (BAZ-7122)

131

1.3. Erstellung von Zuchtmaterial mit Resistenz 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.

*Es wird Ausgangsmaterial für die Weizenzüchtung mit hoher, dauerhafter Resistenz gegen den Schadpilz *Pseudocercospora herpotrichoides* gezüchtet, wobei sich*

die Resistenz aus quantitativen Resistenzen und dem Hauptresistenzgen Pch-1 zusammensetzt.

Die durch das Resistenzgen Pch-1 bedingte Resistenz des Weizens gegen *Pseudocercospora herpotrichoides* wird dominant vererbt. Sie kann in Tests an jungen Pflanzen etwa zwei bis drei Monate nach künstlicher Infektion mit Hilfe der Endopeptidase-Färbung nachgewiesen werden. In den jungen Wachstumsstadien ist der Effekt von Pch-1 am stärksten ausgeprägt, wodurch Genotypen, die das Resistenzgen besitzen, durch den verzögerten Frühbefall noch bis in ältere Stadien einen Vorteil besitzen. Vergleichende Untersuchungen haben jedoch ergeben, daß die Wirkung des Resistenzgens Pch-1 in Abhängigkeit vom genotypischen Hintergrund unterschiedlich sein kann. Manche der Genotypen ließen im Jugendstadium zwar die Resistenz deutlich erkennen, waren jedoch in ihrem Befall nach der Blüte nicht mehr von anfälligen Pflanzen zu unterscheiden. Solche Genotypen sind als Zuchtmaterial wenig nutzbringend, da *P. herpotrichoides* gerade in diesem späten Stadium seine eigentlichen Schäden verursacht. Die Tab. 1 zeigt hierfür einige Beispiele. In ihr werden in einem Gewächshausversuch die anfälligen Sorten 'Granada' und 'Orestis' mit resistenten Sorten bzw. Zuchtstämmen verglichen, die alle das Gen Pch-1 besitzen. Es ist deutlich zu erkennen, daß sich deren Resistenzgrad besonders im Stadium der

Milchreife deutlich voneinander unterscheidet. 'Renan' ist zuletzt ähnlich stark befallen wie die anfälligen Sorten. Der Nachweis des Resistenzgens in jungem Zuchtmaterial ist deshalb häufig nicht ausreichend, er muß ergänzt werden durch eine Befallsbeurteilung in den späteren Entwicklungsstadien, z.B. durch ELISA-Werte im Stadium der Milchreife.

Ein Beispiel für quantitative Resistenz stellt die Winterweizensorte 'Xanthos' dar, die ein Resistenzniveau besitzt, das nahe an das der Sorten mit Pch-1-Resistenz heranreicht. Nicht weniger gut schneiden die quantitativ resistenten Zuchtstämme des Institutes ab. Neben der von 'Cappelle Desprez' herrührenden quantitativen Resistenz enthalten sie noch eine Reihe unbekannter Resistenzgene oder sie besitzen morphologische oder physiologische Eigenschaften, die in der Lage sind, das Wachstum des Pilzes zu hemmen.

Tab. 1: Stärke des Befalls mit *Pseudocercospora. herpotrichoides* bei zwei anfälligen und sechs resistenten Weizen-Genotypen, die das Gen Pch-1 tragen (ELISA-Bonituren)

Genotyp	Wachstumsstadium*	
	21	75
Granada	1,685 a	2,351 a
Orestis	1,263 b	2,209 a
Renan	0,617 de	2,081 a
D93/07	0,898 c	1,393 b
R3-7	0,448 ef	1,143 bc
Roazon	0,523 def	1,063 c
T199	0,712 cd	1,045 c
Rendezvous	0,390 f	0,651 d

* Werte mit unterschiedlichen Buchstaben unterscheiden sich signifikant voneinander bei $P=0,05$

Zur Verbesserung des quantitativen Resistenzniveaus werden Mehrfachkreuzungen durchgeführt, um möglichst von vielen Genotypen die Resistenzgene zu kombinieren. Die zur Zeit besten Zuchtstämme enthalten acht Eltern, während die Kombination von nur zwei Genotypen noch nicht zu einer meßbaren Verbesserung der Resistenz führte.

Der ELISA wird nur bei der Beurteilung von Populationen eingesetzt. In der F_2 -Generation erfolgt eine Selektion entweder auf Grund einer Einzelpflanzenbonitur oder auf Grund anderer Merkmale, d.h. bezüglich der Halmbruchresistenz wird dann eine Zufallsstichprobe genommen. In der F_3 -Generation werden mit dem ELISA die resistentesten Populationen festgestellt, die entweder als Teilrasmch bis zur F_5 -Generation weitergeführt werden oder als Ausgangsmaterial zur Produktion doppelhaploider Linien verwendet werden. In der F_5 -Generation werden nach der Bonitur Einzelpflanzen ausgelesen, deren Nachkommen so bald wie möglich mit mehreren Wiederholungen und mehrortig angebaut werden. Der Weg über DH-Linien führt am schnellsten zu homozygoten resistenten Populationen, wenn vorselektiertes Ausgangsmaterial verwendet wird, und damit auch zu einer schnelleren endgültigen Bestimmung des Zuchtwertes der Weizenstämme. (BAZ-7127)

In Zusammenarbeit mit: Saatzucht Strube, Söllingen; Saur, INRA, Le Rheu, Frankreich

132

1.4. Züchtung auf Resistenz gegen *Rhynchosporium secalis* in Wintergerste mit Hilfe moderner Züchtungsstrategien - Breeding for resistance to *Rhynchosporium secalis* in winter barley using new strategies

Foroughi-Wehr, B.

Die Überprüfung und Verbesserung des ELISA-Testes zur Ermittlung quantitativer Resistenzunterschiede bei *Rhynchosporium secalis* stand im Mittelpunkt der Untersuchungen.

Aus Befallsbonituren auf *Rhynchosporium secalis* ist bekannt, daß gleiche Wintergerstensorten in verschiedenen Gebieten Deutschlands unterschiedliche Reaktionen zeigen. So wird die Sorte 'Intro' in Süddeutschland kaum befallen, während sie vom BSA als hochanfällig eingestuft wird. Daraus kann geschlossen werden, daß ein sehr stark differierendes Pathotypenspektrum existiert. Inzwischen liegen am Institut etwa 30 *Rhynchosporium*-Herkünfte vor, die als Gemisch und als Einzelisolat zur Infektion eingesetzt werden. Da die Vermehrung der Pilze auf Limabohnen-Agar erfolgt, läßt deren Aggressivität nach einigen Zyklen nach. Eine erneute Infektion von Pflanzen und Reisolierung ist dann erforderlich, was sich durch das relativ langsame Wachstum des Pilzes als schwierig erweist. Aus unreifen Embryonen anfälliger Sorten wurden deshalb in vitro Pflanzen herangezogen und diese ebenfalls in vitro infiziert. Eine Rückisolierung kann nach 3- bis 4-wöchiger Kultur erfolgen, ohne daß es zu einer Verunreinigung mit anderen Pilzen oder Bakterien kommt.

Der ELISA zur Ermittlung quantitativer Befallsunterschiede wurde auf Pflanzen, die unter einem natürlichen Infektionsdruck im Freiland wuchsen, angewendet. Aus 4,5 m² großen Parzellen wurden jeweils 10 Blätter genommen, als Mischprobe gequetscht und als Doppelprobe im ELISA gemessen. Gleichzeitig wurde eine praxisübliche Bonitur von 1 (ohne Symptome) bis 9 (voll befallen) durchgeführt. Die Abb. 1 zeigt die Ergebnisse beider Messungen bei aufsteigenden ELISA-Werten. Die meisten Werte stimmen in ihrem Verlauf überein. Der Korrelationskoeffizient beträgt $r = 0.705$. Es ist jedoch deutlich, daß die ELISA-Messung viel stärker differenziert als eine Bonitur mit nur 9 Stufen. Zur Erfassung quantitativer Resistenzunterschiede sollte der ELISA besonders an Pflanzen im Jugendstadium die Methode der Wahl sein. (BAZ-7104)

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

133

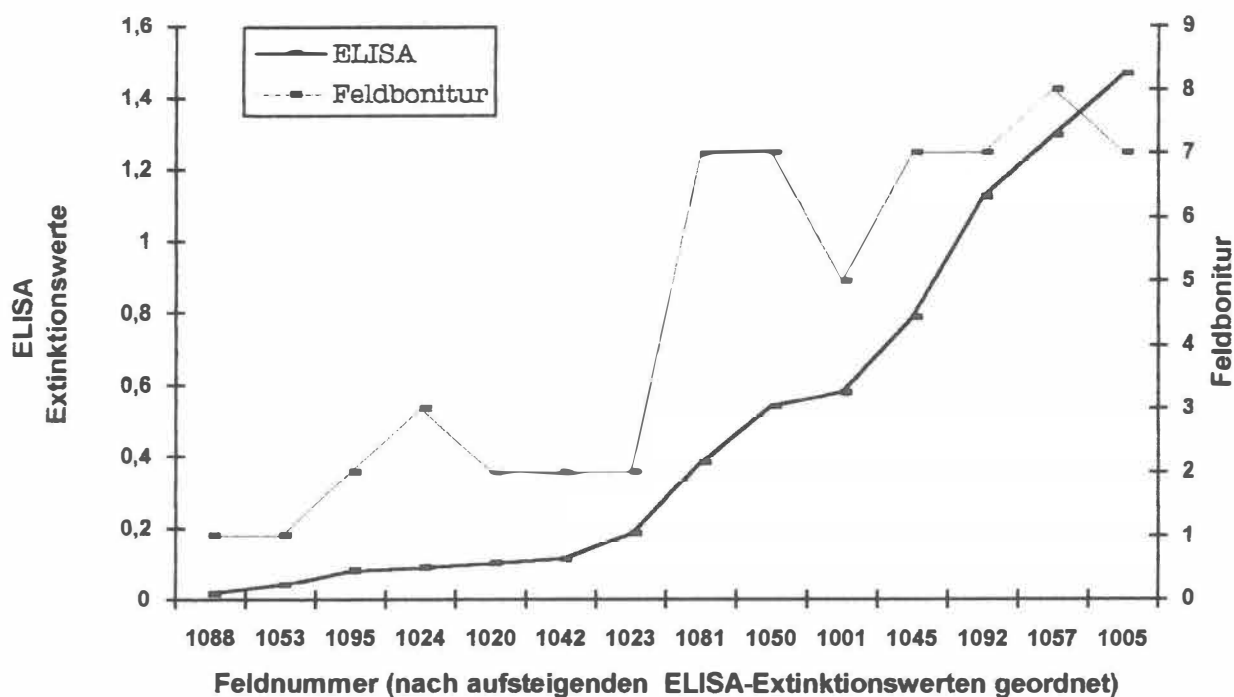


Abb. 1: Vergleich zwischen ELISA- und Boniturergebnissen

2. Züchtung unter Einsatz von Zellkultur methodik

In diesem biotechnologischen Züchtungssektor werden doppelhaploide Pflanzen bei der Getreide- und Protoplasten bei der Kartoffelzüchtung zum beschleunigten Resistenzaufbau in Kombination mit klassischen Züchtungsverfahren genutzt.

2.1. Erstellung von homozygoten Weizenlinien mit pilzlichen Resistenzen durch Anwendung von Haploidtechniken - Production of homozygous wheat lines resistant to fungi by the use of haploid techniques

Lind, V.; Foroughi-Wehr, B.

Die sichere Selektion quantitativ ausgeprägter Eigenschaften in doppelhaploiden Linien wird zur effizienten Kombination wichtiger Resistenzen in Weizen genutzt.

Bei der Züchtung von Weizenlinien mit quantitativer Resistenz gegen *Pseudocercospora herpotrichoides* wird über die Produktion von Dihaploiden schnell ein homozygoten Stadium erreicht, so daß mehrortig in Resistenzprüfungen an großen Stichproben der genetische Wert der Linien ermittelt werden kann. Die Anhebung des quantitativen Resistenzgrades erfolgt schrittweise. So wurde in der F₂-Generation zuerst eine visuelle Bonitur bei ca. 5600 Einzelpflanzen vorgenommen, um die stark anfälligen aussondern zu können. In der F₃-Generation werden anschließend unter den Nachkommenschaften der verbliebenen 690 Einzelpflanzen mit dem ELISA die resistentesten Populationen festgestellt; Rückkreuzungen davon werden dann für die DH-Methode verwendet. Nach der Prüfung der Linien wird entschieden, ob der Resistenzgrad in einem neuen Zyklus weiter verbessert wird oder ob Resistenzgene gegen andere Krankheiten

eingekreuzt werden. In den DH-Linien mit der besten Resistenz gegen *P. herpotrichoides* sind bis jetzt acht Genotypen kombiniert worden. In jene mit dem höchsten Resistenzgrad sollen 1995 neue Gene für Mehltauraesistenz eingelagert werden. Sie entstammen *Aegilops*-Arten und stehen in DH-Linien aus einer Rückkreuzung mit 'Florida' zur Verfügung. (BAZ-7132)

134

2.2. Stand der Züchtung auf Gelbmosaikvirus-(BaYMV; BaYMV-2; BaMMV)-Resistenz in der Wintergerste. - Breeding for resistance to BaYMV; BaYMV-2; BaMMV in winter barley

Foroughi-Wehr, B.

Hauptziel ist die Erweiterung des Resistenzspektrums gegenüber dem neuen Typ des Gerstengelbmosaikvirus (BaYMV-2) und die Einlagerung dieser Resistenz in adaptiertes Wintergerstenmaterial.

Das Programm zur Erweiterung des Resistenzspektrums gegenüber BaYMV-2 und der Einlagerung dieser Resistenzen in adaptiertes Wintergerstenmaterial wurde fortgesetzt. Insgesamt wurden bisher 20 Herkünfte überwiegend aus dem asiatischen Formenkreis in deutsche Wintergersten-Sorten oder -Stämme eingekreuzt.

Die F₁-Kreuzungen dienten als Ausgangsmaterial für die Antherenkultur. Die doppelhaploiden Linien wurden mit Hilfe mechanischer Virus-Inokulation auf Resistenz gegenüber BaMMV getestet. Diese Testergebnisse (Tab. 1) geben einen Hinweis darauf, daß in den exotischen Quellen verschiedene Resistenzgene vorliegen.

Es kann davon ausgegangen werden, daß in dem verwendeten Material eine breite genetische Basis für die Züchtung gegenüber unterschiedlichen Gelbmosaikvirus-Stämmen vorhanden ist.

Die rekurrente Selektion, alternierend mit Haploidschritten, erbrachte nach dem ersten Rückkreuzungsschritt 43

Tab.1: Reaktion unterschiedlichen Wintergerstenmaterials gegenüber dem Gerstengelmosaikvirus

Anz. exot. Elter	Anzahl Kreuzungen	Anzahl DH-Linien	Reaktion auf BaYMM		r : a
			anfällig	resistent	
7	22	1397	672	725	1 : 1,1
2	5	820	308	517	1 : 1,7
1	3	279	69	210	1 : 3
2	5	614	115	499	1 : 4,3

mehrzeilige und 21 zweizeilige winterharte Stämme (Jahresbericht 1993). Nach einer ersten Feldselektion wurden davon 13 mehrzeilige und 9 zweizeilige als Kreuzungseltern für den zweiten Rückkreuzungsschritt verwendet. Die Kreuzungen wurden im Winter 1993/94 im Gewächshaus und im Sommer 1994 im Freiland ausgeführt. BaYMMV-resistente DH-Linien von dieser zweiten Rückkreuzung konnten bereits geerntet werden und müssen nun einem Test auf BaYMMV-2 im infizierten Feld unterzogen werden.

Gleichzeitig werden 1994/95 948 DH-Stämme auf infizierten Feldern an zwei Standorten auf Resistenz gegenüber BaYMMV-2 getestet. Diese Stämme werden in Grünbach auf andere agronomisch wichtige Merkmale getestet. Die Arbeit an der Einlagerung einer breiten Gelbmosaikvirus-Resistenz aus exotischem Material ist soweit gediehen, daß im Herbst 1995 die ersten resistenten Stämme an die Züchter zur weiteren Prüfung abgegeben werden könnten. (BAZ-7101)

135

2.3. Schnelle Kombination komplexer Genotypen durch somatische Fusion - Rapid combination of complex genotypes by somatic fusion

Ltifi, A.; Assani, A.; Wenzel, G.

Ausgehend von Fusionsarbeiten an der Kartoffel, mit der inzwischen in großer Zahl somatische Hybriden unter Feldbedingungen mehrortig geprüft wurden, wird untersucht, wie weit sich diese Technik auf andere vegetativ vermehrte Fruchtarten, wie die Banane, oder auch zur Übertragung einzelner agronomisch wichtiger Eigenschaften einsetzen läßt. Bei sexuell vermehrten Arten müssen in der Regel vor der Fusion zunächst haploide Pflanzen erzeugt werden. Bei Paprika ist dies bei Linien mit unterschiedlicher Resistenz inzwischen hinreichend gelungen. Von den so erzeugten Haploiden werden jetzt Protoplasten isoliert und symmetrisch fusioniert. Bei der triploiden, vegetativ vermehrten Banane soll die Fusion asymmetrisch erfolgen, so daß nach der Fusion keine höhere Ploidiestufe als vor Fusionsbeginn vorliegt. Von triploiden, aber auch von diploiden Primitivformen liegen inzwischen wüchsige In-vitro-Kulturen vor, die sich zur Protoplastenisolierung eignen. Daneben gelang es, Suspensionskulturen zu erstellen, aus denen sich ebenfalls teilungsfähige Protoplasten isolieren lassen. (BAZ-7120,7137)

Drittmittelprojekte finanziert vom DAAD (Ltifi) bzw. von der Hans-Böckler-Stiftung (Assani)

136

2.4. Unkonventionelle Züchtungsmethoden zur Verbesserung der Qualitäts- und Resistenzeigenschaften von *Solanum*-Arten - Unconventional breeding methods for improving quality and resistance of *Solanum* species

Stattmann, M.; Wenzel, G.

Durch Protoplastenfusion sollen interspezifische somatische Hybriden tropischer Solanaceen erstellt und neben dem Einbringen von Resistenzen der Gehalt an pharmazeutisch wichtigen Sekundärstoffen erhöht werden.

Innerhalb eines deutsch-indonesischen Züchtungsprogramms wurden mehrere Wildarten aus der Gattung *Solanum* unter Einsatz biotechnologischer Techniken somatisch und sexuell miteinander kombiniert. Diese Medizinalpflanzen tragen einen hohen Gehalt an Solasodin, welches als Steroidalkaloid für die pharmazeutische Industrie von großem Interesse ist. Um eine langfristige und ökonomisch nutzbringende Kultivierung dieser Wildtypen im tropischen Raum zu ermöglichen, bedarf es in erster Linie neben dem Einbringen von Resistenzen einer Steigerung der Sekundärstoffproduktion. Im Rahmen dieses Programms konnten bislang somatische Hybriden aus zwei Protoplastenfusionen mit *Solanum khasianum* (SK) regeneriert werden: SK (+) *S. aculeatissimum* (SA) und SK (+) *S. mammosum*. Parallel gelang die erste Kombination auch sexuell mit Hilfe der 'embryo rescue'-Technik. Das somatische Hybridmaterial beider Kombinationen wurde phänotypischen Bonituren im Gewächshaus unterzogen und ist von intermediärem Charakter mit Heterosiseffekt bezüglich der Blütenmorphologie. Dieses neu erstellte Material wurde nach Fruchtbarkeit einer eingehenden chemischen Analyse durch Dünnschicht- und HPL-Chromatographie unterzogen. Dabei wurde für die Fusionsprodukte aus SK (+) SA bezüglich der Konzentration an Solasodin ein eindeutig negativer Hybrideffekt festgestellt: in 50% der Pflanzen konnten kein bzw. maximal 15 bis 18% des Steroidalkaloids detektiert werden. Auch bei den sexuellen Nachkommen wurden maximal 70% des Alkaloidgehalts des Elter *S. khasianum* erzielt.

Die Methode der PCR-/RAPD-Analyse wurde als schnelles screening der Fusionsregenerate herangezogen,

was zu einer schnellen Identifikation reiner Elternlinien führte. Für die Wildtypen wurde mit Hilfe der auf Cytoplasmagenomebene ermittelten RFLP-Daten eine Clusteranalyse durchgeführt (SAS/STAT), die für die mit *S. khasianum* fusionierten und mit Erfolg eingesetzten Kombinationspartner den höchsten Verwandtschaftsgrad aufzeigt. Die somatischen Hybriden wurden außerdem auf Kerngenomebene als symmetrisch identifiziert. Dagegen gestalten sich Plastom und Chondriom komplexer: Wurde für die sexuellen Nachkommen der erstgenannten Kombination mit *S. khasianum* ein rein uniparentaler Erbgang des Cytoplasmas nachgewiesen, segregierte das Plastom in beiden Fällen somatischer Hybridisation 1:2 in Typ A (SK) oder Typ B (SA) bzw. lagen annähernd zu 25% Mischtypen vor. Für das Chondriom konnten mit hoher Häufigkeit (bis über 90% der Fälle) Rekombinationsereignisse gefunden werden, die sich in ihrem Grad jedoch z.T. erheblich unterscheiden. Das größte Ausmaß lag dabei für Regenerate aus der Fusion mit SMM vor, sodaß hier eine Korrelation mit Sterilität/Fertilität denkbar wäre.

Untersuchungen zum Resistenzverhalten der Wildarten und deren Hybriden gegen den Erreger *Pseudomonas solanacearum* lassen erkennen, daß die Hybriden in der Anfälligkeitsabstufung dem Elter SA zuzuordnen sind, der eine höhere Resistenz aufweist als SK. (BAZ-7119)

In Zusammenarbeit mit: Priyanto; Handayani; BPP Teknologi, Jakarta, Indonesien
Drittmittelprojekt des BMFT

137

2.5. Ermittlung der allgemeinen und spezifischen Fusionseignung von dihaploiden Kartoffelklonen - Estimation of the general and specific fusion ability of dihaploid potato clones

Frei, U.; Wenzel, G.

Bestimmte Kartoffelgenotypen zeigen in Kombination mit verschiedenen Fusionspartnern immer ein typisches Verhalten in Fusion, Regeneration und Hybridausbeute. Die Erfahrung zeigt, daß nicht allein die Regenerationsfähigkeit des einzelnen Genotyps deutlichen Einfluß auf den Erfolg der Fusion hat, sondern daß auch die Genotypenkombination von entscheidender Bedeutung ist. Vorkenntnisse über das Fusionsverhalten von Genotypen können viel Zeit und Arbeit ersparen.

Um das Fusionsverhalten von vier verschiedenen Genotypen in der Fusion vorab zu ermitteln, wurden verschiedene Gemische fusioniert: ein Gemisch aus allen vier Fusionseltern, die vier möglichen Dreierkombinationen und die vier verschiedenen Homofusionen. Zum späteren Vergleich wurden jeweils die nicht fusionierten Protoplasten kultiviert. Während des Kulturverlaufs wurden verschiedene Parameter bestimmt, z.B. einsetzende Zellteilung, Mikrokallusbildung, Ausbeute an Makrokalli sowie die Regenerationsrate und der Genotyp der Regenerate. Um möglichst früh eine Information über die mögliche Hybridausbeute zu erhalten, wurde aus Kallus DNA extrahiert und mit Hilfe von RFLP-Sonden bereits drei Monate nach der Fusion die Genotypen und ihre Verteilung in den Makrokalli bestimmt. Es wurde ermittelt, welche Genotypenkombination sich in den verschie-

denen Fusionsgemischen durchsetzte, wie die Anwesenheit bzw. das Fehlen eines Genotyps sich auf das Fusionsgemisch und seine Zusammensetzung in der Regeneration auswirkte. Die gewonnenen Daten zeigen deutlich, welche Genotypen hohe allgemeine Kombinationseignung in der Fusion haben und welche nur in einzelnen spezifischen Kombinationen eine gute Fusionseignung besitzen.

Mit Hilfe von unterschiedlichen Fusionsgemischen läßt sich in relativ kurzer Zeit eine Aussage über den Erfolg eines Fusionsprogrammes unter den heute in der Praxis angewendeten Fusionsmethoden machen. Genotypen mit schlechter Fusionskombinationseignung werden frühzeitig erkannt und ihre selteneren Fusionsprodukte können dann mit aufwendigeren Methoden, wie z.B. MACS, angereichert werden. (BAZ-7111)

Drittmittelprojekt des BMFT

138

2.6. Versuche zum Verständnis der Kern/Cytoplasma-Interaktion in Fusionshybriden der Kartoffel - Experiments aiming at an understanding of nuclear/cytoplasmic interaction in somatic hybrids of potato

Lössl, A.; Wenzel, G.

Es wird untersucht, welchen Einfluß unterschiedliche Genom-Plasmon-Kombinationen auf die Variabilität der somatischen Hybriden haben.

Um die hohe im Feld zu beobachtende Variabilität der Fusionshybriden aufzuklären, wurde die Kern-Cytoplasma-Zusammensetzung von mehreren Fusionskombinationen mit bis zu 45 Hybriden mittels RFLP-Analyse charakterisiert. Parallel hierzu wurden die Genotypen in mehrortigen Feldversuchen auf ihre phänotypischen Eigenschaften evaluiert.

Es war zu beobachten, daß innerhalb der Fusionshybriden die Plastiden meist im Verhältnis 1:1 vollständig segregieren und daß der Anteil mitochondrialer (mt) Rekombinationen mindestens 75 % beträgt. Derartige heterogene Chondriome wurden meist sichtbar als teilweise Addition der elterlichen Bandenmuster A und B oder als neu erscheinende Banden, die auf Duplikationen hindeuten. Die mitochondriale Genomzusammensetzung der Hybriden wurde nach steigendem Anteil an mt-Typ B in 5 Gruppen eingeteilt.

Die Korrelation der molekularen Daten mit den Felddaten aus 3 Feldversuchen (siehe Abb. 1) ergab, daß kein nennenswerter Einfluß vom Plastidentyp oder abweichenden RFLP-Mustern des Kerngenoms ausgeht. Jedoch zeigten die Feldversuche in Grünbach, daß der Knollertrag der Hybridkartoffeln von deren mitochondrialer Genomzusammensetzung abhängig ist. Die Ertrags- und Stärkedaten des Feldversuches in Grünbach 1993 wiesen auf einen Vorteil für homogene mitochondriale Genome hin, und sie zeigten eine klare Überlegenheit des Chondrioms des Fusionspartners B (GB93). Auch 1994 äußerte sich die höhere Vitalität dieses Typus am stärksten unter den schwierigeren Umweltbedingungen (geringer Pflanzenschutz) am Standort Grünbach (GB94), während das Ertragsniveau der Mitochondrien-Typen durch die

weniger stringenten Bedingungen am Standort Roggenstein 1994 nivelliert wurde (wöchentliche Fungizid- u. Insektizidapplikation, (RO94)). (BAZ-7112)

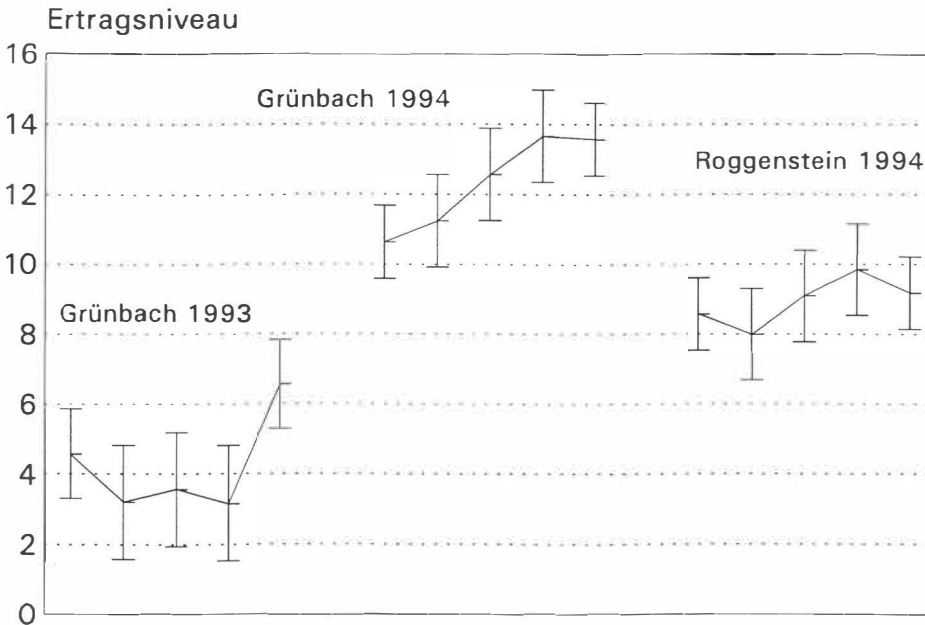
In Zusammenarbeit mit: Frei, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, TU München

Drittmittelprojekt des BMFT

139

Beim Vergleich von vier anfälligen und vier resistenten Weizen-Genotypen mit dem Gen *Pch-1* ließen sich zunächst unterschiedliche Proteine isolieren. Es zeigte sich jedoch nach der Analyse von insgesamt 22 Genotypen, daß diese Proteine in einigen Weizenformen nicht auftreten und somit nicht mehr als Marker für die *Pch-1*-Resistenz verwendet werden können. Die Analyse der

Abb. 1: Gliederung der Hybriden jeweils nach steigendem Gehalt an mt-Typ B



95% Konfidenzintervalle der Mittelwerte

3 Feldversuche, Gliederung der Hybriden jeweils nach steigendem Gehalt an mt-Typ B

3. Resistenzdiagnose und Resistenzaufbau mit molekulargenetischen Methoden

Die Diagnose von An- oder Abwesenheit eines oder mehrerer Resistenzgene läßt sich heute für eine Reihe von Krankheiten sehr effizient und unabhängig von der Umwelt an der pflanzlichen DNA vornehmen. In Grünbach werden dazu vorzugsweise RFLP-Sonden eingesetzt. Die gleichen Sonden erlauben dann beim Verfahren der markergestützten Selektion einen schnellen und sicheren züchterischen Resistenzaufbau in neuen Linien. Das Institut für Resistenzgenetik verwaltet die DNA-Sondenbank für die Gerste mit derzeit über 1200 spezifischen DNA-Sonden.

3.1. Analyse von Wirt-Pathogen-Interaktionen im System Weizen/*Pseudocercospora* - Analysis of the host-pathogen-interaction in the system wheat/*Pseudocercospora*

Lind, V.

Die Beziehung zwischen Protein und Resistenzgen soll analysiert werden, um davon ausgehend eine cDNA-Bank zu erstellen.

Wirkungsweise des Resistenzgens ist nun mit isogenischen Linien, in denen sich *Pch-1* in einem sehr unterschiedlichen genetischen Hintergrund befindet, auf dem mRNA-Niveau fortgesetzt worden. Nach Abschluß der RNA-Extraktion, die zu fünf aufeinanderfolgenden Zeitpunkten nach der Inokulation stattfindet, werden Unterschiede des mRNA-Musters mit Hilfe von Sonden oder der In-vitro-Translation festgestellt.

Die Beobachtung, daß bei Weizen ein Protein mit 7,8 kd gelelektrophoretisch allmählich nicht mehr nachweisbar ist, nachdem er mit *Pseudocercospora herpotrichoides* infiziert wurde, führte zu der Annahme, daß dieses Protein mit der Wirt/Pathogen-Interaktion in Beziehung steht oder auch mit dem Abwehrmechanismus der Wirtspflanze. Um die Art des Proteins und seine Rolle bei diesem Mechanismus zu untersuchen, wurde Weizen-cDNA kloniert. Mit dem Lambda-Phagen wurden 10^5 Klone erreicht. Von diesen reagierten 22 im Immunscreening positiv. Für diese Selektion wurde ein Antiserum verwendet, das mit dem pflanzlichen Protein erzeugt wurde. Die isolierten cDNA-Phagenklone wurden gereinigt und auf Insertgröße untersucht. Das betrachtete Protein setzt bei 7,800 d ein DNA-Stück von mindestens 210 bp voraus. Bei einigen lag die Insertgröße aber über diesem Wert. Es werden deshalb posttranslationale Modifikationen und die Anwesenheit weiterer cDNA-Inserte im

gleichen Vektor angenommen. Gegenwärtig werden die einzelnen Inserte der Klone sequenziert. (BAZ-7128, 7130)

140

3.2. Ausbau der molekularen Markerkarte und Verwaltung der Sondenbank der Gerste (*Hordeum vulgare*) - Extension of the molecular marker map and administration of the probe repository of barley (*Hordeum vulgare*)

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. Die Arbeiten konzentrieren sich auf den Aufbau und den Ausbau der molekularen Markerkarte des Gerstengenoms und der damit verbundenen DNA-Sondenbank.

Als Grundlage für die Kartierung und Markierung wirtschaftlich wichtiger Gene wurde der Ausbau der bestehenden 'Igri' x 'Franka'-Karte fortgesetzt. Diese enthält zum gegenwärtigen Zeitpunkt rund 440 molekulare Marker. Die Zahl der Intervalle > 30 cM konnte auf nunmehr drei verringert werden. Besonderes Augenmerk wird weiterhin auf die Selektion weiterer Einzelkopiermarker gelegt, da nur diese eine zweifelsfreie Übertragung der Ergebnisse in fremdes Material gewährleisten können. Die experimentellen Arbeiten zur Vereinigung der Münchner 'Igri' x 'Franka'-Karte mit der 'Step-toe' x 'Morex'-Karte des North American Barley Genome Mapping Projects konnten weitgehend abgeschlossen werden. Basierend auf über 100 gemeinsamen RFLP-Markern ist nun die Erstellung einer Konsensuskarte möglich, welche rund 800 Marker aufweist und eine durchschnittliche Auflösung von unter 2 centiMorgan besitzt. Die RFLP-Sondenbank umfaßt zum gegenwärtigen Zeitpunkt etwa 850 RFLP-Sonden eigener Produktion sowie rund 400 Sonden anderer Gruppen. Sämtliche Sonden werden über ein ausgewähltes Gerstensortiment geprüft und die so gewonnenen Passport-Daten in einer Datenbank gespeichert. Im Berichtszeitraum wurden 35 Sondenanfragen bearbeitet, im Zuge derer 917 RFLP-Sonden in Form getrockneter Plasmid-DNA zu Forschungszwecken versandt wurden.

Im Gegensatz zu klassischen Markern, deren Allele in den meisten Fällen fixiert sind, bieten molekulare Markerkarten die Möglichkeit, die Vererbung einer Vielzahl von genetischen Markern in einer einzigen Nachkommenschaft zu analysieren. Dies trifft auch auf die Untersuchung der Rekombinationsraten während der Mikro- bzw. Makrosporengese zu. Zu diesem Zweck wurden zwei reziproke Rückkreuzungsnachkommenschaften (AxB) x A (I) bzw. A x (AxB) (II) mit 70 RFLP-Markern, welche ca. 80 % des Gerstengenoms abdecken, analysiert. Jede der Nachkommenschaften lieferte ein genaues Bild über die Rekombinationsfrequenzen bei der Bildung des weiblichen (I) und des männlichen (II) Gametophyten bei der Gerste. Im Gegensatz zur Tomate konnten bei der Gerste weder auf Genomebene noch auf

Ebene einzelner Chromosomen Unterschiede in den Rekombinationsfrequenzen festgestellt werden. Lediglich auf subchromosomaler Ebene zeigten sich signifikante Unterschiede in den Rekombinationsfrequenzen einzelner Markerintervalle. Dies legt den Schluß nahe, daß die Rekombinationsfrequenzen der verschiedenen Geschlechter keinen systematischen Effekten unterliegen. Die genetische Auflösung von Spaltungsanalysen läßt sich durch die Richtung der Kreuzung somit nicht beeinflussen. Um den praktischen Einsatz molekularer Markertechniken auf breiter Basis zu ermöglichen, wurden Arbeiten zur PCR-gestützten genetischen Analyse von Mikrosatellitenmarkern im Gerstengenom aufgenommen. Hierbei werden einzelne Mikrosatellitenloci mit Hilfe der Polymerase-Kettenreaktion (PCR) amplifiziert. Mit Hilfe der Silberfärbung lassen sich Längenunterschiede der entsprechenden DNA-Fragmente nach gelelektrophoretischer Auftrennung direkt nachweisen und in die molekulare Markerkarte der Gerste integrieren. In weiteren Untersuchungen wird der Polymorphismus des Markersystems geprüft und mit der konventionellen RFLP-Markertechnik verglichen. (BAZ-7134)

In Zusammenarbeit mit: Kleinhofs, Washington State University, USA; Kasha, University of Guelph, Kanada
Projekt mit BML-Sonderfinanzierung

141

3.3. RFLP-Kartierung wirtschaftlich wichtiger Genkomplexe der Gerste (*Hordeum vulgare*) - RFLP mapping of agriculturally important genes in barley (*Hordeum vulgare*)

Graner, A.; Kellermann, A.; Foroughi-Wehr, B.; Strelchenko, P.

Als Grundlage für die künftige Anwendung der marker-gestützten Selektion in Zuchtprogrammen erfolgt mit Hilfe von DNA-Markern die Lokalisierung agronomisch relevanter Eigenschaften im Gerstengenom.

Vornehmliche Ziele der Arbeiten sind die Identifizierung, die Lokalisierung und die 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) sowie den pilzlichen Schaderreger *Rhynchosporium secalis*. Bei der Virusresistenz konnte zusätzlich zu dem bereits auf dem langen Arm von Chromosom 3 kartierten *ym4*-Locus ein neuer Genort (*ym7*) auf dem kurzen Arm von Chromosom 5 (1H) lokalisiert und mit einer Reihe von RFLP-Sonden markiert werden. Als Grundlage für die Identifizierung und Kartierung von weiteren Virusresistenzgenen wurden 8 resistente Herkünfte in einem partiellen Diallel verkreuzt. Die anschließende Resistenztestung ergab fünf Komplementationsgruppen. Für weitere genetische Untersuchungen wurde mit dem Aufbau spaltender Nachkommenschaften begonnen. Hinsichtlich der Resistenz gegen *Rhynchosporium secalis* konnte ein monogen vererbtes Resistenz-

gen in der Wintergerstensorte 'Triton' identifiziert werden. Resistenztestungen wurden an einer Kreuzungsnachkommenschaft, bestehend aus 55 DH-Linien, durchgeführt. Das Resistenzgen befindet sich im proximalen Bereich des langen Arms von Chromosom 3, wo es durch eine Gruppe kosegregierender RFLP-Marker markiert wird. Komplementierend hierzu wurde eine quantitativ vererbte *Rhynchosporium*-Resistenz in einer DH-Nachkommenschaft einer Kreuzung der Wintergerstensorten 'Igri' und 'Danilo' untersucht. Hierbei konnten 60 % der genetischen Varianz durch 4 RFLP-Marker erklärt werden. Mit 31,8 % der genetischen Varianz liegt der größte Effekt auf dem langen Arm von Chromosom 2. Auf dem kurzen Arm von Chromosom 2 wurde ein aus *Hordeum bulbosum* in die Kulturgerste eingelagertes Mehlauresistenzgen lokalisiert und mit Hilfe von RFLP-Markern kartiert. (BAZ-7105, 7108)

z.T. mit Drittmittelfinanzierung durch BMFT und Industrie

In Zusammenarbeit mit: Jahoor, TU München; Tekauz, Agriculture Canada; Michel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

142

3.4. 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.

*Als Voraussetzung für die markergestützte Isolierung eines Virusresistenzgens erfolgten der Aufbau einer hochauflösenden Kartierungspopulation sowie die weitere Markerabsättigung im Bereich des *ym4*-Locus.*

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 Arms von Chromosom 3 auf ein besonders günstiges Verhältnis zwischen genetischen (cM) und physikalischen Distanzen (Basenpaaren) hindeutet. Die Ursache hierfür liegt in einer von proximalen 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. 2000 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. Parallel zur Erstellung einer hochauflösenden Kartierungsnachkommenschaft ist es erforderlich, die Markerdichte im Bereich des Ziellocus weiter zu erhöhen. Zu diesem Zweck wurden subgenomische DNA-Sondenbanken, welche mit Hilfe der Mikrodissektionstechnik aus Metaphasechromosomen gewonnen wurden, gesichtet. Als Ausgangsmaterial hierfür dienen Weizen-Gerste-Additionslinien, die eine disome Addition des Chromosoms 3 tragen, bzw. eine Translokationslinie, in welcher der Telomerbereich des langen Arms von Chromosom 3 in einem Umbauchromosom eindeutig identifizierbar ist. Von insgesamt 650 geprüften DNA-Sonden erwiesen sich 16 als polymorph in einer der beiden Kartierungspopulationen ('Igri' x 'Franka', 'Vada' x *Hordeum spontaneum*). Diese detektierten insgesamt 19 Loci, wovon 11 Loci (58 %) auf Chromosom 3 kartierten, keiner jedoch weniger als 15 cM vom Resistenzgen entfernt. Da die überwiegende Zahl der kartierten Sonden komplexe Hybridisierungsmuster ergab, wurden erwartungsgemäß auch duplizierte Loci auf anderen Chromosomen nachgewiesen. Die Tatsache, daß die meisten auf Chromosom 3 lokalisierten Marker im proximalen Bereich des Chromosoms kartieren, stellt einen weiteren Hinweis auf die massive Konzentration von Rekombinationsereignissen in distalen Chromosomenregionen dar. Aufgrund der im Vergleich zum Aufwand geringen Ausbeute an brauchbaren RFLP-Sonden werden sich die weiteren Arbeiten auf die Nutzung alternativer, PCR-gestützter Markersysteme konzentrieren. (BAZ-7133)

In Zusammenarbeit mit: Martin, Univ. München; Künzel, IPK, Gatersleben; Friedt, Univ. Gießen

Drittmittelfinanzierung durch die DFG (Bauer)

143

3.5. Transformation von Mikrosporen der Wintergerste - Transformation of microspores in winter barley

Foroughi-Wehr, B.

Ziel dieses Vorhabens ist eine stabile Transformation von Wintergerste mit praxisrelevanten Genen.

Mit den beschriebenen Techniken wird es gelingen, wichtige Resistenzgene in physikalischer Form zu fassen. Gleichzeitig ist in den letzten Jahren die genetische Transformation von Getreidezellen bei allen wichtigen Arten gelungen. Dabei wurden zwei verschiedene Methoden eingesetzt: einmal die Elektroporation an Protoplasten, wofür eine teilungs- und regenerationsfähige Suspensionskultur Voraussetzung ist, und zum anderen der Partikel-Beschuß, der an regenerationsfähigem Gewebe durchgeführt werden kann. Beide Methoden haben

zu transformierten Pflanzen geführt, jedoch scheinen die Transformanten nicht immer genetisch stabil zu sein; außerdem ist eine Reproduzierbarkeit der erzielten Ergebnisse nicht immer gegeben. Eine Anwendung unter praktischen Gesichtspunkten ist bisher außerdem noch zu aufwendig.

Bei der Wintergerste steht im Institut ein System zur Verfügung, das zu einer Anreicherung vitaler, teilungsfähiger Mikrosporen nach deren Isolierung führt. Aus den Antheren einer Ähre konnten auf diese Weise bis zu 522 Pflanzen regeneriert werden. Von der Firma Biotech wurde uns ein Elektroporationsgerät vom Typ Biojet MI150 kostenlos zur Verfügung gestellt, um Transformationsversuche an Mikrosporen durchzuführen.

In der Zeit von Februar bis Juni 1994 wurden insgesamt 62 Transformationsexperimente gemacht. Eine 40%ige PEG-Behandlung der Mikrosporen wurde mit Elektroporation kombiniert, wobei die Parameter wie Pulslänge und Spannung variiert wurden. Als Gen wurde das Phosphinothricin-acetyl-Transferasegen (PAT) der Firma Hoechst AG eingesetzt. Bei den insgesamt 31 auswertbaren Versuchen konnten etwa 2000 Pflanzen pro Variante (1.PEG-Behandlung + Elektroporation + Plasmid; 2.PEG-Behandlung + Elektroporation; 3.PEG-Behandlung) ins Gewächshaus in Erde überführt werden. Zum Nachweis einer gelungenen Transformation wurden die Pflanzen mit dem Totalherbizid BASTA mit einer Wirkstoffkonzentration von 600 mg/l behandelt. Bei allen regenerierten Pflanzen kam es nach wenigen Tagen zum Absterben. Das bedeutet, daß eine Integration des Fremdgens unter den angewendeten Bedingungen nicht gelungen ist. (BAZ-7103)

In Zusammenarbeit mit: Frei, Lehrstuhl für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, TU München

Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung Quedlinburg

Das Institut für Gemüse-, Heil und Gewürzpflanzenzüchtung hat die Aufgabe, Basismaterial mit hoher Resistenz gegen Schaderreger und hoher Produktqualität zu entwickeln. Das Basismaterial dient der Sortenzüchtung. Als Kulturarten werden vorrangig bearbeitet: Kohl, Rettich, Leguminosen, Porree, Möhre, Fenchel und Kümmel.

1. Biotechnologie

Am 29.05.1994 führte ein defektes Temperaturregelsystem zur Temperaturerhöhung auf 56 °C in einem Kulturraum mit In-vitro-Kulturen. Alle Regeneratpflanzen aus der somatischen Hybridisation bei Gemüsekohl einschließlich noch regenerierender Kalluskulturen, Zellsuspensionen von Kümmel und Porree, aber auch homozygotes bzw. haploides Pflanzenmaterial aus Antherenkulturen, wurden vernichtet. Wertvolle Fusionate sind verloren, Suspensionen müssen in aufwendiger Arbeit neu etabliert und selektiert werden.

1.1. Etablierung von Methoden zum Transfer ausgewählter Markergene und deren Nachweis bei Gemüseformen der *Brassicaceae* - Establishment of methods for the transfer of selected marker genes and their identification in vegetable forms of *Brassicaceae*

Klocke, E.; Ryschka, U.; Schumann, G.

Übertragung wichtiger Eigenschaften in Brassicaceae zur Schaffung von neuem Basismaterial

Der direkte Gentransfer in Protoplasten von *Brassica oleracea* var. *botrytis* konnte optimiert werden. Die Transformation wurde mittels spezieller Temperaturbehandlung der Protoplasten (Hitzeshock bei 42 °C) und PEG-Applikation induziert. Als Plasmide wurden pRT 99 GUS und pGL 2 verwendet. Bereits nach 2 Tagen konnte bei Einsatz des Plasmids pRT 99 GUS die transiente Expression des β -Glucuronidase-Gens fluorometrisch nachgewiesen und quantifiziert werden. Sowohl die Transformation mit einem Vektor (pGL 2 oder pRT 99 GUS) als auch die Kotransformation mit 2 Vektoren (pGL 2 und pRT 99 GUS) führten zu stabilen transformierten Regeneratpflanzen. An Blattexplantaten von kotransformierten Regeneratpflanzen konnten sowohl auf kanamycinhaltigem als auch auf hygromycinhaltigem Nährmedium sproßregenerierende Kallusgewebe induziert werden. Als Kontrolle dienten Blätter von Aus-

gangspflanzen. Bereits nach einigen Tagen war der Chlorophyllabbau deutlich sichtbar; diese Blattexplantate starben innerhalb kurzer Zeit vollständig ab. Aus einem Kotransformationsexperiment mit 2×10^6 Mesophyllprotoplasten konnten 20 stabile Transformanten erzeugt werden. Mittels Southern-Hybridisierung werden z. Z. die erhaltenen Regeneratpflanzen charakterisiert.

Mit Hilfe der optimierten direkten Gentransfermethode werden verschiedene *Brassica*-Formen mit dem HPT-Gen bzw. NPT-Gen transformiert, um nach der Protoplastenfusion auf Zellebene somatische Hybride selektieren zu können. (BAZ-1101)

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

145

1.2. Protoplastenfusion als Voraussetzung zur somatischen Zellhybridisierung bei Gemüseformen von *Raphanus* und *Brassica* - Protoplast fusion as a supposition for somatic cell hybridization in vegetable forms of *Raphanus* and *Brassica*

Ryschka, U.; Schumann, G.; Klocke, E.

Schaffung neuer alloplasmatischer Formen durch somatische Hybridisierung

Für die Übertragung spezifischer Resistenzen in Blumenkohl und Kopfkohl wurden die in der Resistenzforschung selektierten Rezipienten in ein In-vitro-Depot überführt (Tab. 1)

Es konnten für alle in der Tabelle aufgeführten Rezipienten Protokolle für die Isolierung geeigneter vitaler und stabiler Protoplasten erarbeitet werden. In einer Vielzahl von Experimenten gelang es, auf der Grundlage von Polyethylenglykol für die verschiedenen somatischen Hybridisationskombinationen die entsprechende Fusionstechnik zu adaptieren. Dabei zeigt sich, daß zur optimalen Verschmelzung von Protoplasten verschiedener Rezipienten unterschiedliche Fusionstechniken anzuwenden sind. Darüber hinaus konzentrierten sich die Arbeiten auf den Einsatz einer asymmetrischen Fusionstechnik unter Verwendung von Röntgenstrahlen. Zur Verbesserung der Techniken sind weitere Untersuchungen erforderlich. Zu

Tab. 1: Resistenzquellen, die als Fusionspartner für *B. oleracea* var. *botrytis* und *B. oleracea* var. *capitata* dienen

<i>Alternaria</i>	<i>Phoma</i>	<i>Plasmodiophora</i>	TuMV
<i>Sinapis alba</i> (2 Linien)	<i>Brassica carinata</i> , <i>B. juncea</i> , <i>B. nigra</i> , <i>Raphanus sativus</i> (4 Linien), <i>Sinapis alba</i>	<i>Raphanus sativus</i> (4 Linien)	<i>Armoracia rusticana</i>

den Ergebnissen der verschiedenen Kombinationen siehe Punkt 1.3. (BAZ-1103)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

146

1.3. Protoplastenregeneration zur Erzeugung somatischer Hybriden bei Gemüseformen von *Raphanus* und *Brassica* - Protoplast regeneration for the development of somatic hybrids in vegetable forms of *Raphanus* and *Brassica*

Ryschka, U.; Schumann, G.; Klocke, E.; Neumann, M.; Scholze, P.

Erzeugung von somatischen Hybriden, insbesondere cytoplasmatisch-männlich sterilen Gemüseformen, von Brassicaceae

In der Tabelle 1 sind die Kombinationen der Protoplastenfusionen dargestellt, von denen es gelang, Pflanzen zu regenerieren. Dabei kamen bisher noch keine Zellmarker zur Selektion von somatischen Hybriden zum Einsatz. Die Identifizierung somatischer Hybride erfolgte mittels morphologischer Merkmale und molekularbiologischer Untersuchungsmethoden. Durch die Erarbeitung und Etablierung einer Schnellmethode für die Isolierung genomischer DNA gelang es in kurzer Zeit, ein umfangreiches Screening zum Nachweis des Hybridcharakters

der Regeneratpflanzen nach erfolgter Protoplastenfusion durchzuführen. Die klassischen Methoden erfordern viel Zeit und Blattmaterial. Mit dem neuen Verfahren kann innerhalb von 2 Stunden aus 30 bis 40 mg Blattmaterial DNA in reproduzierbarer Qualität für mindestens 30 verschiedene RAPD-PCR-Analysen gewonnen werden. Die Standardisierung der Methode ist so hoch, daß eine Messung der eingesetzten DNA entfallen kann. Aufgrund der minimalen Menge benötigten Blattmaterials ist es möglich, bereits sehr kleine In-vitro-Pflanzen zu untersuchen, ohne deren weiteres Wachstum zu beeinträchtigen. Damit konnten 1994 umfangreiche Untersuchungen von erzeugten Fusionspflanzen verschiedener *Brassicaceae* mit *Brassica oleracea* var. *botrytis* auf molekularer Ebene durchgeführt und der Hybridcharakter zweifelsfrei nachgewiesen werden (Abb.1, Tab. 1).

Die ersten aus der symmetrischen Fusion *B. oleracea* var. *botrytis* x *Sinapsis alba* stammenden 2 Hybridlinien konnten in vitro vermehrt und in Erde überführt werden. Die in der AG Resistenzforschung durchgeführten Tests gegenüber einigen pilzlichen Erregern zeigten, daß diese somatischen Hybride hoch resistent gegen *Alternaria brassicicola* und *Phoma lingam* waren, einige jedoch gegenüber *A. brassicae* anfällig.

(BAZ-1104)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg 147

Tab.1: Anzahl der Regeneratpflanzen, die nach den verschiedenen Protoplastenfusionen erhalten wurden, und die bisher mittels RAPD-PCR charakterisierten Hybridpflanzen

Art der Fusion	Anzahl der Regenerate	Anzahl der bisher ermittelten somatischen Hybridpflanzen
Asymmetrische Fusion		
<i>Brassica oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. carinata</i>	142	27
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. juncea</i>	228	29
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. nigra</i>	504	32
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>Sinapis alba</i>	452	12
Symmetrische Fusion		
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>Armoracia rusticana</i>	122	-
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>Sinapis alba</i>	112	2
<i>B. oleracea</i> var. <i>botrytis</i> x <i>B. juncea</i>	155	-

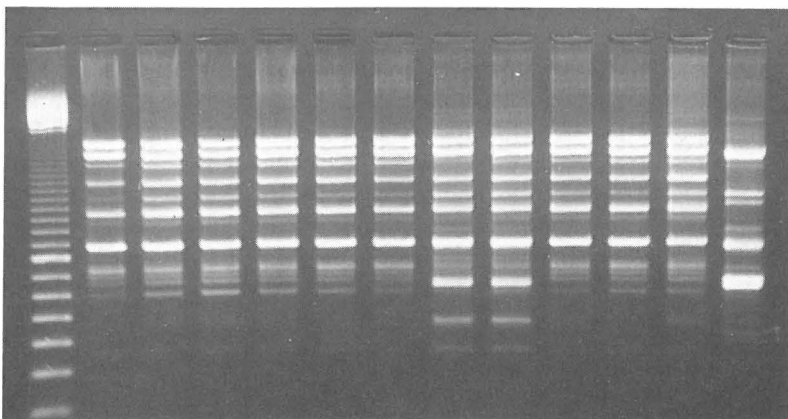


Abb.1: RAPD-"fingerprint" mit Primer OPA 04 von Regeneratpflanzen nach symmetrischer Protoplastenfusion *B. oleracea* var. *botrytis* x *S. alba*; Spur 1: Molekulargewichtsmarker (100 bp-Leiter), Spuren 2 bis 11: "fingerprint" von Regeneratpflanzen, Spur 12: *B. oleracea* var. *botrytis*, Spur 13: *S. alba*

**1.4. Antheren- und Samenanlagenkultur bei Gemüseformen von *Brassica*-Arten und -Varietäten
- Anther and ovule culture in vegetable forms of *Brassica* species and varieties**

Klocke, E.

Erzeugung von Haploiden und Aufbau von DH-Linien bei Gemüseformen von Brassica

Über Antherenkultur und Kultur unbefruchteter Samenanlagen wurden Regeneratpflanzen ausgewählter F₁-Formen der Kombination *Brassica oleracea* var. *botrytis* × *B. oleracea* var. *gemmifera* bzw. der reziproken Kombination erzeugt. Die Regeneration erfolgte über Kallus- bzw. Embryoidbildung. Diese Pflanzen wurden in Erde überführt, um sie morphologisch besser charakterisieren zu können. Außerdem wurde von diesen Pflanzen aus Blattmaterial Gesamt-DNA isoliert. Mittels anschließender RAPD-PCR-Analysen konnte die Richtung der Kreuzungskombination der Spenderpflanzen nachgewiesen werden. Aufgrund der großen Unterschiede zwischen den Amplifikationsprodukten der DNA von *B. oleracea* var. *botrytis* und *B. oleracea* var. *gemmifera* war dafür ein Screening mit 4 Zufallsprimern ausreichend.

Zur weiteren Optimierung der Applikation von Silberionen im Induktionsmedium auf Antheren und isolierte unbefruchtete Samenanlagen zur Erzeugung von Haploiden und homozygoten Pflanzen wurden 9 verschiedene Genotypen von *B. oleracea* var. *gongylodes* getestet. Bei beiden Explantattypen regenerierten die Pflanzen fast ausschließlich über eine Kallusphase. Embryoide traten als Ausnahme auf. (BAZ-1105)

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

148

1.5. Etablierung von Zelltechniken für die somatische Hybridisierung von Porree (*Allium porrum*) - Establishment of cell techniques for the somatic hybridization of leek (*Allium porrum*)

Schumann, G.; Ryschka, U.

Erzeugung von somatischen Hybriden mit neuen Resistenzeigenschaften

Aufbauend auf den Ergebnissen eines Idiotypenscreenings und der Untersuchung zahlreicher Gewebeteile (Blattbasen, Blattscheiben, Blütenböden, Fruchtknoten, Samenanlagen, Antheren, reife Embryonen, Samen) von Porree, gelang es, eine Methode zur Kallusinduktion zu etablieren. Von allen getesteten Ausgangsexplantaten eignen sich reife Samen, die auf einem MS-Medium mit Auxinzusatz gekeimt wurden, am besten. Unter den einzeln oder in Kombination applizierten Auxinen stellte sich 2,4-Dichlorphenoxyessigsäure (2,4-D) in einem Konzentrationsbereich von 1 bis 2 mg/l als am besten heraus. Gleichzeitiger Zusatz von Cytokinin führte teilweise zu einer einsetzenden Sproßmorphogenese. Das sich mit 2,4-D in der Etablierungsphase entwickelnde Kallusgewebe war strukturell stets fest und kompakt. Nachfolgende Subkulturen der Primärkalli bewirkten die Bildung von interzellularrreichen, teilweise krümelig-bröckligen Gewebebereichen. Besonders auffällig war in

diesem Zusammenhang das vergleichsweise extrem langsame Kalluswachstum. Um eine ausreichende Menge Kallusgewebe zur Suspensionsetablierung oder aber auch zur Protoplastenisolation zu erzeugen, waren 3 bis 6 Monate Kulturdauer erforderlich. Veränderte Gaben von Wachstumsregulatoren führten entweder zur Entwicklung sehr lockerer Gewebe, bestehend aus langen, tubulären Zellen, oder das dedifferenzierte Kalluswachstum wurde zur Morphogenese umstimuliert.

Erhebliche Schwierigkeiten im Rahmen der Zellkulturarbeit bereiteten bei allen Experimenten, unabhängig vom verwendeten Ausgangsexplantat, endophytische Bakterien. Zur Lösung dieses Problems wurde in ersten Experimenten mit der Applikation verschiedener Antibiotika begonnen. Sowohl während des Zellaufschlusses in der Enzymlösung als auch in der Protoplasten- bzw. Zellkultur wurden die antibakterielle Wirkung auf den Endophyten und die Zellverträglichkeit geprüft. Aussichtsreiche Ansatzpunkte ergeben sich mit der Verwendung von Ceftazidim (Fortum), einem Cephalosporin der 3. Generation. Diese Arbeiten werden weitergeführt, da sie auch für andere Arten der Gattung *Allium* Bedeutung haben. (BAZ-1106)

In Zusammenarbeit mit: Peterka, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Schum, BAZ, Inst. f. Zierpflanzenzüchtung, Ahrensburg

149

1.6. Samenanlagenkultur von Porree (*Allium porrum*) zur Erzeugung von homozygotem Basismaterial - Ovule culture of leek (*Allium porrum*) for the development of homozygous basic material
Schumann, G.; Ryschka, U.

Schaffung von DH-Linien

In Fortsetzung der bisher vorliegenden Ergebnisse zur In-vitro-Kultur isolierter Samenanlagen und Fruchtknoten bei Porree wurden die induzierten Kallusgewebe histologisch untersucht.

Isolierte Samenanlagen zeigten in wenigen Fällen (0,8 bis 1,2 %) eine schwache Tendenz zur Kallusproliferation. Da diese sehr kompakten und dichten Gewebe zum Teil die gesamte Samenanlage umschlossen, war eine Zuordnung des genaueren Proliferationsursprungs nicht möglich. Transversale und longitudinale Schnitte, die mit Safranin und Fast Green gefärbt wurden, zeigten besonders intensive Zellteilung und Zellwachstum im Bereich des Funiculus. Aus einer Region mit sehr kleinen meristematischen Zellen (enge Kern-Plasma-Relation) differenzierten typische, stark vakuolisierte Kalluszellen mit dickeren Zellwänden und zum Teil gut ausgebildeten Interzellularräumen. Gelegentlich war auch eine verstärkte Zellteilungsaktivität im Übergangsgewebe zwischen Chalaza und Integumenten erkennbar. Zellteilungen im Bereich des Embryosackes konnten nicht nachgewiesen werden. In vielen Fällen waren diese Regionen avital. Bei den induzierten Kallusgeweben kann dementsprechend nur von somatischem Gewebe ausgegangen werden. (BAZ-1107)

150

1.7. Etablierung embryogener Suspensionen von Kümmel (*Carum carvi* L.) als Voraussetzung für die somatische Hybridisierung - Establishment of embryogenic suspensions of caraway (*Carum carvi* L.) as a supposition for somatic hybridization

Schumann, G.; Ryschka, U.

Erzeugung somatischer Hybride bei Kümmel

Bei Apiaceen ist es bis auf wenige Ausnahmen nicht möglich, aus Mesophyllgewebe isolierte Protoplasten zu Pflanzen zu regenerieren. Aus diesem Grund wurden, ausgehend von verschiedenen Explantanteilen, insbesondere Kümmelsamen und Sproßsegmenten, auf MS-Medium mit 1 mg/l 2,4-D feindisperse, aus isodiametrischen Zellen bestehende embryogene Suspensionen mit hoher morphogenetischer Potenz etabliert.

Gut wachsende Zellsuspensionen sind eine besonders günstige Protoplastenquelle. In Abhängigkeit vom physiologischen Zustand der Suspensionskulturen schwankte deren Protoplastierbarkeit. Nur feindisperse Suspensionen, bestehend aus sehr kleinen, zytoplasmareichen Zellgruppen, lieferten eine gute Protoplastenausbeute. Alle etablierten Zellsuspensionen erwiesen sich als protoplastierbar, sie differierten jedoch in ihrem Protoplastenertrag. Für die Protoplastenfreisetzung erwies sich ein Enzymgemisch aus Cellulase R-10, Pectolyase Y-23 und Driselase bei einer Inkubationszeit von 15 bis 16 h als optimal. Die mit FDA-Färbung ermittelte Vitalität der Protoplasten lag in der Regel zwischen 80 bis 90 %. Unter optimalen Isolations- und Kulturbedingungen wurden die ersten Zellteilungen nach 3 Tagen beobachtet. Mikrokolonien mit mehr als 30 Zellen waren nach 10 Tagen nachweisbar. Die Teilungsfähigkeit der Protoplasten stand in enger Beziehung zur Regenerationsfähigkeit der Ausgangssuspension. Aus älteren, strukturell auch feindispersen Suspensionen, die nicht mehr morphogen waren, konnten zwar Protoplasten isoliert werden, die Teilungsrate war jedoch gering. Eine hohe Protoplastenausbeute ist somit keine Garantie für eine hohe Platingeffizienz. (BAZ-1108)

In Zusammenarbeit mit: Pank, Krüger; BAZ, Inst. f. Qualitätsanalytik, Quedlinburg
151

1.8. Etablierung von Zelltechniken für die somatische Hybridisierung von Zwiebel (*Allium cepa*) - Establishment of cell techniques for the somatic hybridization of onion (*Allium cepa*)

Schumann, G.; Ryschka, U.

Erzeugung von somatischen Hybriden

Die Erzeugung von Kallusgeweben zur Etablierung von Suspensionen bei Zwiebel erwies sich als sehr schwierig. Trotz verschiedener Explantate und Variation der im Induktionsmedium applizierten Wachstumsregulatoren konnte bislang keine reproduzierbare Methode zur Kallusinduktion etabliert werden. Von den untersuchten Explantaten sind bislang isolierte Blütenböden am erfolgversprechendsten. Aus diesen sehr teilungsaktiven Gewebebereichen können relativ unproblematisch zahl-

reiche Sprosse regeneriert werden. Die Umstimulierung dieser Sproßmorphogenese in ein dedifferenziertes Kalluswachstum gelang bisher noch nicht. Hohe Auxingaben hemmten zwar die Organogenese, führten aber nicht zu einer strukturellen Umdifferenzierung. In ersten Versuchen konnten aus solchen Geweben einzelne Protoplasten isoliert werden, die Gesamtausbeute war jedoch noch zu gering. (BAZ-1121)

152

1.9. Etablierung einer Methode zur In-vitro-Klonierung spezieller männlich steriler Möhrenlinien - Establishment of an in vitro propagation method for special male sterile carrot lines

Ryschka, U.; Schumann, G.; Klocke, E.

Schnelle Vermehrung männlich steriler Möhrenlinien

Für die In-vitro-Vermehrung von selektierten männlich sterilen Möhrenlinien ist die Verwendung von Sproßsegmenten zur Induktion von embryogenem Kallusgewebe besonders gut geeignet. Auf einem modifizierten MS-Medium lassen sich entstehende Embryoide schnell zu Sprossen differenzieren. Voraussetzung für eine Überführung in Erde war eine gute Bewurzelung der In-vitro-Pflanzen, die im Flüssigmedium erfolgte. (BAZ-1122)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

153

2. Resistenzforschung

2.1. Etablierung und Anpassung von Methoden zur Resistenzprüfung in Gemüseformen von Brassicaceae gegen das turnip mosaic virus (TuMV) - Establishment and adaptation of methods for the evaluation of Brassicaceae vegetable forms for resistance to turnip mosaic virus

Krämer, R.

Entwicklung standardisierter Methoden zur kulturspezifischen Resistenzbewertung bei verschiedenen Gemüseformen von Brassicaceae gegen das turnip mosaic virus. Optimierung des Virusnachweises zur Resistenzfrüherkennung.

Im Rahmen der Etablierung von Resistenzprüfmethoden ist die Verwendung weitgehend charakterisierter Virusisolate eine wesentliche Voraussetzung. Vom turnip mosaic potyvirus (TuMV) wurden mit Unterstützung des Pflanzenschutzamtes Frankfurt/M. (Hessen) 11 TuMV-Isolate aus Deutschland (9), den Niederlanden (1) sowie aus Ungarn (1) von 8 unterschiedlichen Wirtspflanzen gewonnen. Aufgrund von Unterschieden in der relativen Viruskonzentration (ELISA) und der Symptomausprägung bei *Brassica oleracea* var. *capitata alba* sowie bei *B. rapa* ssp. *pekinensis* konnten die TuMV-Isolate nach ihrer Virulenz differenziert werden. Danach ließen sich 5 Isolate (von Kopfkohl und Raps) als hoch virulent, 2 (von Rüben und Salat) als schwach virulent und 3 (von Blumenkohl, Chinakohl und Kohlrabi) als intermediär einstufen. Während bei der Mehrzahl der Isolate kein Unterschied in der Virulenz auf Weißkohl bzw. China-

kohl festzustellen war, zeigte sich 1 Isolat (von Knoblauchsrauke) auf Chinakohl als hoch und auf Weißkohl als schwach virulent.

Für eine mögliche weitere Differenzierung der Isolate wurden 33 unterschiedliche Pflanzenarten mechanisch mit den TuMV-Isolaten inokuliert. Wirtspflanzen für nahezu alle getesteten Isolate waren: *Brassica* sp., *Capsella* sp., *Chenopodium* sp., *Gomphrena* sp., *Matthiola* sp., *Nicotiana* sp. sowie *Tetragonia* sp.. Nicht nachweislich mechanisch inokulierbar waren: *Cucumis* sp., *Lactuca* sp. und *Petunia* sp.. Qualitative Befallsunterschiede, die im Hinblick auf eine Differenzierung der TuMV-Isolate verfolgt werden könnten, zeigten sich bei folgenden Pflanzenarten: *Impatiens* sp., *Phaseolus* sp., *Pisum* sp. und *Raphanus* sp.. Insgesamt traten quantitative Befallsunterschiede (Symptomausprägung; ELISA) insbesondere an *B. oleracea* var. *botrytis*, *B. oleracea* var. *sabauda*, *B. oleracea* var. *capitata rubra*, *Chenopodium* sp. sowie an *Nicotiana* sp. auf. Die Unterscheidung der TuMV-Isolate nach ihrer Virulenz anhand des getesteten Wirtspflanzenspektrums stimmt weitgehend mit der Differenzierung an *B. oleracea* var. *capitata alba* bzw. *B. rapa* ssp. *pekinensis* überein.

Die Unterschiede in der Virulenz bei 4 ausgewählten TuMV-Isolaten konnten darüber hinaus auch an in vitro verklonten Pflanzen (*B. oleracea* var. *capitata alba*, *B. rapa* ssp. *pekinensis*) verifiziert werden.

Insgesamt unterstreichen die Befunde, daß die Virulenz der TuMV-Isolate für die Bewertung der Resistenz von *Brassica*-Formen eine entscheidende Bedeutung hat.

Bei *B. oleracea* var. *capitata alba* 'Fantasy' konnte beispielsweise gezeigt werden, daß die 2 schwach virulenten Isolate auch in ihrer Ausbreitung innerhalb der Pflanze gehemmt waren. In den oberen Blattetagen (6. bis 10. Blatt) konnten im ELISA und mit dem DTBA (direct tissue blotting assay) keine Viren bzw. nur sehr geringe Viruskonzentrationen ($E_{405nm} = 0,08$ bis $0,33$) nachgewiesen werden. Bei 2 hoch virulenten Isolaten lagen die Werte vergleichsweise zwischen $E_{405nm} = 0,68$ bis $1,33$. Hieraus resultierend wurden für die Resistenzprüfungen primär Isolate mit hoher Virulenz eingesetzt. Die Verwendung von Isolatgemischen wird in weiteren Versuchen geprüft. (BAZ-1109)

In Zusammenarbeit mit: Leistner, Proll, Rabenstein, BAZ, Inst. f. Pathogendiagnostik, Aschersleben

154

2.2. Screening von Gemüseformen der Brassicaceen 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 (TuMV) as a prerequisite to elucidate the type of resistance and to generate resistance donors

Krämer, R.; Klocke, E.; Neumann, M.; Schumann, G.

Evaluierung von Brassica-Formen (Sorten, Hybridmaterial, Material aus der Zellkultur) auf Toleranz bzw. Resistenz gegen das TuMV mit standardisierten Resistenzprüfmethoden

Die Arbeiten zur Prüfung von Gemüseformen der Brassicaceen auf TuMV-Resistenz und zur Selektion von Resistenzdonoren wurden unter Einbeziehung weiterer TuMV-Isolate im Gewächshaus und im Freiland fortgesetzt.

Zur wiederholten Resistenzbewertung (mechanische Inokulation, 3- bis 5-Blatt-Stadium) von selektierten Kopfkohlarten (Weißkohl, Wirsingkohl) wurden unter Freilandbedingungen 3 virulente TuMV-Isolate eingesetzt.

Die Weißkohlsorten (*B. oleracea* var. *capitata alba*) waren gegen alle TuMV-Isolate anfällig, zeigten jedoch in Abhängigkeit von den Isolaten Befallsunterschiede (ELISA; $E_{405} = 0,25$ bis $1,20$). Von 216 Pflanzen konnten 20 (9,3 %) als virusfrei selektiert werden. Im Gegensatz dazu war die postinfektionelle Viruskonzentration bei den Wirsingkohlarten (*B. oleracea* var. *sabauda*) bei allen Isolaten vergleichsweise niedrig (ELISA; $E_{405} = 0$ bis $0,33$). Insgesamt waren 67 % der Pflanzen virusfrei. Damit konnte das beim Wirsingkohl nachgewiesene Resistenzniveau auch gegenüber weiteren TuMV-Isolaten mit vergleichsweise hoher Virulenz bestätigt werden.

Aus der Evaluierung von 59 (teilweise bereits selektierten) *Brassica*-Formen (Gaterslebener Genbank-Material; Kultursorten) konnten von 17 Genotypen virusfreie Einzelpflanzen selektiert werden. Ein überdurchschnittlich hoher Anteil virusfreier und symptomloser Pflanzen zeigte sich bei Wirsingkohl (44,8 %) sowie bei Blumenkohl (54,5 %).

Ein anderer potentieller Donor für die TuMV-Resistenz ist ein Klon vom Meerrettich (*Armoracia rusticana*, Herkunft: ehemal. Inst. f. Phytopathologie, Aschersleben). Nach mechanischer Inokulation mit einem virulenten TuMV-Isolat blieben alle Pflanzen symptomlos und virusfrei (ELISA).

Das Screening von *Brassica*-Bastardmaterial unter Feldbedingungen wurde fortgesetzt. Von insgesamt 15 geprüften Bastarden zeigten 3 *Raphanobrassica*-Bastarde (C 121, C 122, C 124) auch gegen ein hoch virulentes TuMV-Isolat Resistenz (symptomlos; $E_{405} = 0,10$ bis $0,12$). Darüber hinaus traten bei diesen Genotypen (C 121, C 122, C 124) auch unter natürlichem Befallsdruck (Parallelversuch, ehemal. Inst. f. Phytopathologie, Aschersleben) keine Krankheitssymptome auf (Bonitur; ELISA). Die Stabilität der Resistenz an selektierten *Raphanobrassica*-Bastarden gegen weitere hoch virulente TuMV-Isolate konnte an verklontem Pflanzenmaterial gezeigt werden. Von 3 Bastarden (C 114, C 122, C 124) wurden 25 Klone (170 Pflanzen) gegen 3 TuMV-Isolate geprüft (mechanische Inokulation, 3- bis 5-Blatt-Stadium). In 4 Pflanzen (C 114, C 124) war eine systemische Infektion nachweisbar ($E_{405} = 0,14$ bis $0,62$). An 2 Pflanzen wurden nur lokal Symptome (Abreibblätter) festgestellt. Offensichtlich liegt bei den getesteten *Raphanobrassica*-Bastarden Resistenz gegen ein breites Spektrum von TuMV-Isolaten vor. (BAZ-1110)

In Zusammenarbeit mit: Clauß, BAZ, Inst. für Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Proeseler, BAZ, Inst. für Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben

155

2.3. Einführung eines Prüfverfahrens zur Recherche nach Resistenz gegen *Alternaria* und *Phoma* in progenerativen Stadien von Brassicaceen - Introduction of a screening technique for evaluation of resistance to *Alternaria* and *Phoma* in progenerative stages of *Brassicaceae*
Scholze, P.

Introduktion und Anpassung eines leistungsfähigen und aussagesicheren Prüfverfahrens; Verbesserung konventioneller Prüfmethoden und Schaffung von Voraussetzungen zur Resistenzevaluierung bei systematisch, morphologisch und phänologisch differenten Brassicaceae

Als Voraussetzung für die Ermittlung von Genotypen mit Resistenz gegen *Alternaria* und *Phoma* wurde ein Prüfverfahren etabliert. Es umfaßt leicht handhabbare methodische Elemente, die bei effektivem Serierendurchlauf und verhältnismäßig geringem Arbeits- und Materialaufwand eine hohe Sicherheit bei der Datenerhebung gewährleisten. Im Mittelpunkt des Verfahrens steht die Einzelpflanzenbewertung, so daß die Vorselektion von für die Herstellung von Basismaterial potentiell aussichtsreichen Resistenzträgern möglich ist. Da die auf Kruziferen spezialisierten Alternarien (*Alternaria brassicae*, *A. brassicicola*) vornehmlich perithotrophe Parasiten sind und infolgedessen keine absolute Resistenz in den Wirtsherkünften zu erwarten ist, wird die Inokulation lediglich bei Jungpflanzen an intakten Keim- oder Sekundärblättern 2. bis 3. Grades, sonst aber ausschließlich an isolierten ausgewachsenen Blättern oder Blattsegmenten vergleichbarer Insertion vorgenommen. Die Interpretation der erhobenen Befunde geht vornehmlich von dem Merkmal "Anfälligkeitsdisposition des Wirtsgewebes" aus, wobei es die Methode zuläßt, praktisch alle Blattinsertionen und Entwicklungsstadien innerhalb der prägenerativen Phase der Pflanzen in die Untersuchungen einzubeziehen. Zur Vermeidung arbeits- und materialaufwendiger Verfahrenselemente werden die Blätter entweder direkt inokuliert (bei Jungpflanzen), oder die Inokulation erfolgt, wenn die Blattgrößen etwa 90 cm² überschreiten, an ausgeschnittenen Segmenten von ca. 70 cm² Ausmaß. Für jede zu bewertende Einzelpflanze werden bei drei gleichzeitig eingesetzten Erregern im Jungpflanzenstadium lediglich zwei bis drei Blätter, bei auf dem Feld oder im Gewächshaus weiterentwickelten Pflanzen höchstens zwei Blätter bzw. Blattsegmente benötigt. Spezielle Untersuchungen ergaben, daß erstens schon ab 7. ausgewachsenem Blatt die Reaktionslage aller nachfolgend ausreifenden Blätter bis zum Ende der vegetativen Phase etwa gleich ist und zweitens die Anfälligkeit der Keimblätter angenähert dem durchschnittlichen Dispositionsgrad gegenüber Parasitenbefall entspricht. Mit Ausnahme der Sekundärblätter 4. bis 6. Grades kann deshalb die einmalige Prüfung der Testpflanzen mit allen entwickelten Blättern oder relevanten Blattscheiben zu jedem Zeitpunkt der verbleibenden Vegetationszeit vorgenommen werden.

Die getopften Jungpflanzen oder die isolierten Blätter bzw. Blattsegmente werden in von oben lichtdurchlässige Isolierkabinen gestellt bzw. auf angefeuchtetes Filterpa-

pier gelegt. Die Inokulation wird traumatisch (Epidermisperforation mit aufgesetzten 10-µl-Tropfen; Konz. der Suspension 10⁵ bis 10⁶ Kon./ml) vorgenommen. Acht gesetzte Läsionen je Prüfglied und Erreger - wobei Simultaninokulation mit zwei Erregern je Blatt bzw. Blattsegment zusätzliche Zeit- und Platzersparnis bringt - reichen für die sichere Charakterisierung der Variationsbreite des untersuchten Merkmals aus.

Bei Zimmertemperatur, hoher Luftfeuchtigkeit und in der Regel ohne Zusatzbeleuchtung manifestiert sich der Befallsgrad bei *A. brassicicola* nach fünf, bei *A. brassicae* nach sechs und bei *Phoma* nach sieben Tagen p. i. *Phoma* bildet zu diesem Zeitpunkt noch keine Pyknidien, jedoch ist eine Verlängerung der Inkubationszeit wegen zunehmender Zersetzung des Wirtsgewebes nicht durchführbar.

Für die Schätzung des Anfälligkeitsausmaßes werden Läsionengröße sowie Chlorotierungs- und Nekrotisierungsgrad des infizierten Gewebes herangezogen, wobei für das weniger aggressive *Phoma lingam* diffizilere Bewertungsmaßstäbe zugrunde zu legen sind.

Nach Erprobung an einem Prüfsortiment im Jahre 1993 sowie einem unter Freiland- und Gewächshausbedingungen im Jahre 1994 angesetzten Serierendurchlauf mit 470 systematisch, phänologisch und morphologisch differenten Kruziferenherkünften (Sippen aus dem Genreservoir IPK Gatersleben, Zuchtlinien, Sorten, Bastarde, Wildformen) ließen sich Leistungsfähigkeit, Sensibilität und Aussagezuverlässigkeit des etablierten Prüfverfahrens unter Beweis stellen. (BAZ-1123)

156

2.4. Recherchen nach Donoren mit Resistenz gegen *Alternaria* und *Phoma* in Herkünften von Brassicaceen - Search for donors with resistance to *Alternaria* and *Phoma* in *Brassicaceae* accessions
Scholze, P.

Evaluierung von Brassicaceen (Sippen, Sorten, Bastarde, Zuchtlinien, Wildformen) zur Auffindung von Resistenzdonoren als Voraussetzung für die Herstellung von Basismaterial

Die kruziferenspezifischen Alternarien (*Alternaria brassicae*, *A. brassicicola*) und *Phoma lingam* treten in der Regel in späteren Wachstumsstadien der Gemüsebrassicaceen auf und verursachen teilweise empfindliche Ertrags- und Marktwertminderung am Produkt. Eine planmäßige Resistenzzüchtung gibt es bislang nicht, da es an effektiven Resistenzdonoren mangelt. Daher besteht die Aufgabe vorerst darin, zu versuchen, diese Lücke zu schließen. Im Berichtszeitraum wurde erstmalig umfangreiches Material von Brassicaceen mit einem im Jahre 1993 entwickelten Simultanprüfverfahren (vgl. Jahresbericht BAZ-1112, 1993, S. 73) recherchiert. Alle 151 *Brassica oleracea*- und 145 *B. rapa*-Herkünfte, insbesondere aus dem IPK Gatersleben, erwiesen sich als hochanfällig gegen die geprüften Erreger. Desgleichen ein Sortiment von RRAA/RRCC-Raphanobrassica-Bastarden und Ausgangsformen von E. Clauß, ausgenommen je eine Einzelpflanze der Kombinationen Radies 'Certina' x Chinakohl/Rübsen (weißblühend), Radies

'Certina' x Rotkohl 'Früher Steinfester' und Chinakohl x Rotkohl 'Dauerrot' mit Widerstandsfähigkeit gegen *Phoma*. Resistenz sowie verminderte Anfälligkeiten verschiedenster Ausprägung wurden bei 39 Sippen von *Sinapis alba* gefunden. Durch Protoplastenfusion ist ihre Übertragung in *Brassica*-Arten möglich. Bei der Prüfung eines Sortiments von 45 Nachkommen aus *Sinapis alba*-Blumenkohl-Fusionen, die zweimal mit Blumenkohl rückgekreuzt waren, konnten gegenüber *A. brassicae* und *Phoma* hochresistente Pflanzen gefunden werden. Dagegen erwiesen sich Regenerate aus Protoplastenfusionen von *A Armoracia rusticana* x Blumenkohl als anfällig gegen alle drei Erreger.

In Simultanprüfungen wurden auch 200 Einzelpflanzen aus 2 Ökotypen von *Arabidopsis thaliana* einbezogen; sie reagierten durchweg hochresistent (Befallsklasse 0/1).

Im Jahre 1995 werden die Evaluierungen weitergeführt, wobei in verstärktem Maße die Erweiterung der Variabilität der Anfälligkeitsmanifestierung durch Protoplastenfusion berücksichtigt werden soll. (BAZ-1124)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; Clauß, Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

157

2.5. Recherchen nach Donoren mit Resistenz gegen *Plasmiodiophora brassicae* in Herkünften von Brassicaceen - Search for donors with resistance to *Plasmiodiophora brassicae* in Brassicaceae accessions

Scholze, P.

Evaluierung von Brassicaceen (Sippen, Sorten, Bastarde, Zuchtlinien, Wildformen) zur Auffindung von Resistenzdonoren als Voraussetzung für die Herstellung von Basismaterial

Im Berichtszeitraum wurden 200 Herkünfte von *Brassica oleracea*, 224 Herkünfte von *B. rapa*, 92 Sippen von *Raphanus sativus*, ein Sortiment von 26 *Raphanobrassica*-Bastarden bzw. deren Ausgangsformen von E. Clauß sowie 40 Herkünfte von anderen Kreuziferenarten geprüft. Für die Inokulation standen aggressive Erregerisolate von Weißkohl (Herkunft Marne) und Chinakohl (Herkunft Glückstadt) zur Verfügung. Ihr ECD-Virulenzindex wird z. Z. ermittelt.

Von den *B. oleracea*-Herkünften waren die meisten mäßig bis stark anfällig. Resistente Einzelpflanzen wurden bei F₁-Hybridsorten von Rot-, Weiß- und Wirsingkohl sowie einigen samenechten Sorten von Grünkohl und Blattkohl (var. *viridis*) festgestellt. Von den *B. rapa*-Herkünften waren alle Chinakohle hochanfällig, dagegen erwiesen sich einige Linien der Stoppelrübe (var. *rapa*) als absolut bzw. teilweise resistent. Wie erwartet, wurden viele Resistenzträger bei den *Raphanus*-Sippen festgestellt. 32,6 % der Herkünfte ließen sich der Befallsklasse 0/1 (befallsfrei/hochresistent) zuordnen. Bei 11 RRAA/RRCC-*Raphanobrassica*-Bastarden manifestierte sich die starke Resistenz des *Raphanus*-Ausgangselters qualitativ, differentiell, aber in nahezu unverminderter Expressivität. Dagegen waren 4 *rapa* x *oleracea*-Bastarde, wie ihre Ausgangsformen, hochanfällig.

Von weiteren Kreuziferenherkünften wurden geprüft: jeweils mehrere Sippen von *Crambe abyssinica*, *C. hispanica*, *Capsella bursa-pastoris*, *Camelina sativa*, *Sinapis alba* und *Brassica tournefortii* sowie je 1 Sippe von *Thlaspi arvense*. Resistenzen aller Manifestierungsgrade fanden sich bei *C. hispanica*, besonders aber bei *Capsella* und *Thlaspi*; alle übrigen Sippen erwiesen sich als mäßig bis stark anfällig.

Im Jahre 1995 werden die Recherchen fortgeführt und weitere *Plasmiodiophora*-Isolate einbezogen. (BAZ-1125)

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben; Clauß, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg; Löptien, GZG Marne

158

Institut für Qualitätsanalytik Quedlinburg

Das Institut für Qualitätsanalytik unterstützt die Züchtungsforschung durch enge Verknüpfung seiner Arbeiten mit den Zielstellungen der Projekte anderer BAZ-Institute. Es werden qualitätsbestimmende Merkmale erforscht, spezielle analytische Methoden für die Selektion auf Qualität entwickelt, und es erfolgt die Charakterisierung von Zuchtmaterial. Die Untersuchungen schließen ernährungsphysiologisch bedeutsame Inhaltsstoffe, Fettsäuren, Sekundärstoffe, geschmacksbildende Inhaltsstoffe und die äußere Qualität ein.

1. Ernährungsphysiologisch bedeutsame Inhaltsstoffe und äußere Qualität

1.1. Modifizierung von Methoden zur Zucker- und Carotinbestimmung an Möhrenmaterial - Modification of methods for the determination of sugars and carotin in carrot material Höfer, R.; Quilitzsch, R.

Anpassung und Etablierung von Untersuchungsmethoden zur möglichst umfassenden Qualitätsbestimmung bei Möhren (Daucus carota L.)

Eine Methode zur dünnstschichtchromatographischen Bestimmung (HPTLC) von Zuckern, getrennt nach Saccharose, Fructose und Glucose, in Möhrensaft wurde etabliert und die Anwendbarkeit der gleichen Methode auf Erbse, Erdbeere, Kohlarten und Kartoffel erweitert. Die Erfassung eines breiten Spektrums qualitätsbestimmender Parameter wie Carotin (hierzu laufen ebenfalls methodische Arbeiten), Trockensubstanz, Refraktometerwert und Farbe ermöglichen eine umfangreiche Qualitätserfassung bei der Gemüseart Möhre. Durch zusätzliche sensorische Bewertung eines umfangreichen Möhrenmaterials konnten die analytisch ermittelten Ergebnisse bestätigt werden. Eine gute Übereinstimmung besteht auch zwischen chromatographisch ermittelten Carotingehalten und zerstörungsfreien Farbmessungen. Der Einfluß von Lagerung und Konservierung auf verschiedene Qualitätsparameter wurde am kühl gelagerten, gefroste-

ten und gefriergetrockneten Untersuchungsmaterial ermittelt. (BAZ-1202)

In Zusammenarbeit mit: Nothnagel, Peterka, BAZ, Inst.f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg
159

1.2. Kohlenhydratbestimmung an Gemüseeerbsen (*Pisum sativum L.*) - Determination of carbohydrates in peas (*Pisum sativum L.*) Hoberg, E.

Vergleich und Modifizierung der verschiedenen Qualitätsbestimmungsmethoden hinsichtlich ihrer Anwendbarkeit in der Vorselektion und zur Charakterisierung von Erbsenentypen in speziellen Entwicklungsstadien

Für reproduzierbare und richtige Analyseergebnisse sind die repräsentative Probennahme und Probenaufarbeitung unabdingbare Voraussetzungen. Diese Anforderungen werden dann zum Problem, wenn es sich bei dem Untersuchungsgut um Material wie Gemüseeerbsen handelt, dessen Qualitätsbewertung im grünen Zustand erfolgen muß. Dieses Stadium ist durch höchste Stoffwechsellaktivität gekennzeichnet. Die Proteineinlagerung sowie die Stärkesynthese sind noch nicht abgeschlossen. Hinzu kommt, daß sich innerhalb einer Hülse Samenkörner befinden, deren Korngröße zwischen 4 und 10 mm Siebdurchgang variiert. Die Korngröße korreliert eng mit den für die sensorische Bewertung maßgeblichen Kohlehydraten Saccharose und Stärke (Abb.1).

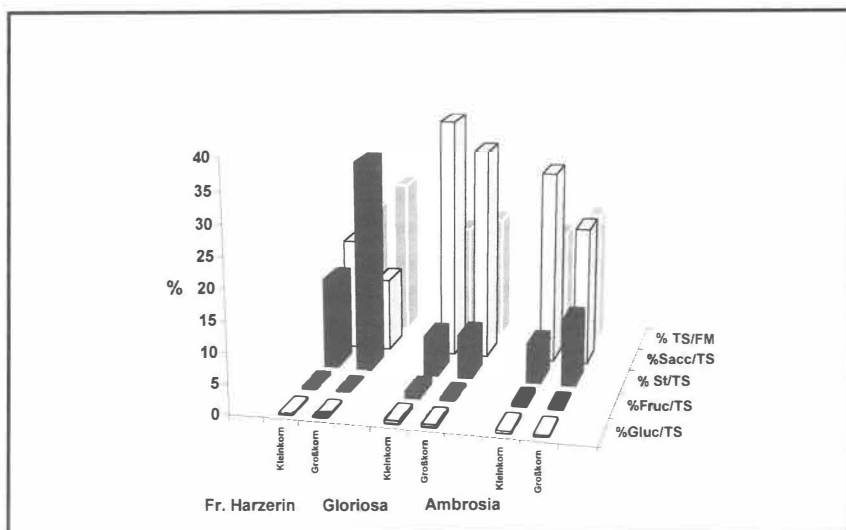


Abb. 1: Prozentuale Anteile der Kohlenhydrate in kleinen und großen Körnern von frischen grünen Erbsen

Bei einer Ernte, die nicht im optimalen Reifezustand erfolgt, sind Abweichungen, bezogen auf die Trockenmasse, insbesondere bei Fructose (Reduktion auf 24 %), Amylose (Steigerung auf 350 %), Stärke (Steigerung auf 218 %) und Saccharose (Reduktion auf 60 %) gemessen worden. Die Untersuchung verschiedener Aufarbeitungsvarianten (Schnellgefrieren bei -30°C mit und ohne Blanchieren, Schockbehandlung in flüssigem Stickstoff) vor der einheitlichen Gefriertrocknung zur Lagerung zwischen Ernte und Analyse ergab zwar für Pal-, Mark- und Zuckererbsen geringfügige Unterschiede; diese waren aber im Vergleich zu den Veränderungen infolge der erprobten Behandlungen unmaßgeblich (Abb. 2).

Weiterführung methodischer Arbeiten zur Untersuchung des Gehaltes an Glucosinolaten in Brassicaceae-Bastarden. Selektion von Basismaterial für die Züchtung von Sorten mit niedrigem Gehalt an unerwünschtem toxischem bzw. hohem Gehalt an, aus ernährungsphysiologischer Sicht, erwünschten Glucosinolaten.

Es wurde ein Methodenspektrum etabliert zur schnellen Vorselektion auf den Gesamtgehalt an Glucosinolaten im Samen, zur quantitativen Bestimmung des Gesamtglucosinolatgehaltes auf enzymatischer Basis bzw. mit Hilfe der HPTLC, ebenfalls an Samenmaterial sowie die qualitative und quantitative Bestimmung der desulfatisierten Glucosinolate in Samen und im Blattmaterial

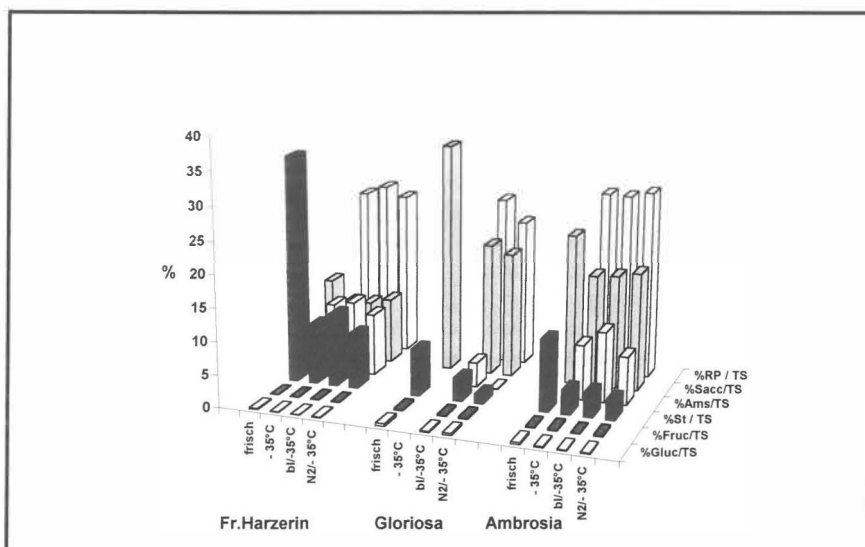


Abb. 2: Inhaltsstoffe der Gemüseerbse in Abhängigkeit von der Lagerungsart zwischen Ernte und Analyse (Korngröße: 8 bis 10 mm Siebdurchgang)

Der Stärkeabbau gegenüber den frischen Proben beläuft sich auf 73 bis 80,3 %, der Saccharoseabbau auf 21,7 bis 45,5 %. Diese Ergebnisse entsprechen den Erfahrungen, die bei der Untersuchung von Grünerbsen für die industrielle Verarbeitung gewonnen wurden. Vergleichbare und aussagefähige Analysenwerte für die Bewertung der Gemüseebsenqualität erhält man unter der Voraussetzung, daß die Probennahme mittels physikalischer Meßmethoden objektiv überwacht wird, daß die Probenvorbereitung bis zur Analyse standardisiert wird und wenn mit dem Untersuchungsergebnis die Aufarbeitungsbedingungen angegeben werden. (BAZ-1209)

160

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.

mit Hilfe der HPLC.

Die methodischen Arbeiten wurden dahingehend erweitert, daß bei Erhalt der Lebensfähigkeit der angekeimten Samen und deren Kultivierung zur Pflanze aus einem abgetrennten Keimblatt sowohl die Bestimmung des Fettsäuremusters als auch die qualitative und quantitative Bestimmung der Glucosinolate möglich ist.

Untersucht wurde ein umfangreiches *Brassicaceae*-Sortiment, dessen Gehalt an Glucosinolaten sowohl quantitativ als auch qualitativ bestimmt wurde. Verfolgt wurde auch die Entwicklung des Gehaltes der Einzelkomponenten über die Vegetationsperiode der Pflanzen. Dabei wurden Formen gefunden, die einerseits überwiegend Alkyl- bzw. Alkenylglucosinolate und andererseits hohe Gehalte an Indolglucosinolaten, insbesondere Glucobrassicin und Neoglucobrassicin, im Blattmaterial aufwiesen. Die Arbeiten werden fortgesetzt (BAZ-1203). In Zusammenarbeit mit: Clauß, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

161

1.4. 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.; Höfer, R.; Pank, F.

Es sollen zerstörungsfreie Bestimmungsmethoden für die innere und äußere Qualität erarbeitet werden. Die Objektivierung der Bestimmung der äußeren Qualität wird angestrebt.

Bei Möhre wurden an einem Sortiment von Sorten und Zuchtmaterial mittels eines Spektralphotometers Farbmessungen nach dem CIE- und CIELAB-System durchgeführt. Neben Untersuchungen zum Einfluß der Probenvorbereitung auf die Meßergebnisse wurden die Korrelationen zwischen verschiedenen Farbkoordinaten (CIELAB) und dem β -Carotingehalt untersucht. Die ersten Ergebnisse sind vielversprechend, müssen aber noch durch weitere Messungen gefestigt werden. Farbmessungen an 14 Erdbeersorten dienten zur Markierung des Reifegrades im Zusammenhang mit Inhaltsstoffuntersuchungen.

An Sortimenten von Fenchel- und Kümmelsorten wurden Farbmessungen in Untersuchungen über die Abhängigkeit des Gehaltes an ätherischen Ölen vom Reifegrad bzw. Erntetermin einbezogen. Erste Ergebnisse liefern bei einzelnen Sorten Korrelationen zwischen Farbe und Gehalt an ätherischem Öl. (BAZ-1201)

162

2. Fettsäuren

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.

Es sind zerstörungsfreie, züchtungsspezifische Analysemethoden für Fettsäuremuster und Ölgehalt zu erarbeiten.

Das Fettsäuremuster wurde bei Brassicaceae-Art- und -Gattungsbastarden mit den Genomen RRAA, RRCC, RRRR, CC und AA analysiert. Mit Hilfe der TMSH-Methode zur direkten Umesterung der Triglyceride aus dem Samenmaterial können sowohl Makroanalysen an Mischproben als auch Mikroanalysen an Einzelkörnern effektiv ausgeführt werden. Reproduzierbarkeit und Richtigkeit der Methode liegen im Rahmen der herkömmlichen Verfahren. Mehrfach ungesättigte Fettsäuren werden dagegen durch das TMSH-Verfahren bei Raumtemperatur schonender umgesetzt. Auch die Analyse der Fettsäuren aus den Keimblättern bei der Halbkornmethode gelingt sowohl bei Brassicaceae als auch bei der sehr kleinsamigen Modellpflanze *Oenothera*. Erst-

mals konnte eine Population von *Oenothera*-Pflanzen aus einer Serie von Halbkornanalysen herangezogen werden. Bei Brassicaceae-Bastarden ist es gelungen, sowohl die Analyse des Fettsäure- als auch des Glucosinolatmusters an einem Halbkorn auszuführen. (BAZ-1204)

In Zusammenarbeit mit: Clauß, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

163

3. Sekundäre Inhaltsstoffe

3.1. 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 low-morphine or morphine-free forms of *Papaver somniferum* L. suitable as baking poppy

Schütze, W.

*Weiterführung der Untersuchungen zur Selektion morphinarmer/morphinfreier Formen von *Papaver somniferum* L. unter Einsatz der erarbeiteten dünn-schicht-chromatographischen Methode zur Entwicklung von Basismaterial für die Sortenzüchtung.*

Die Arbeiten zur Charakterisierung des Morphingehaltes an Zuchtmaterial von *Papaver somniferum* L. wurden kontinuierlich fortgeführt.

Die 1993 aus Freiland- und Gewächshausanbau erzielten Ergebnisse im Hinblick auf Morphinarmut / Morphinfreiheit konnten, soweit bereits aufgearbeitet, 1994 bestätigt werden. In die Untersuchungen einbezogen wurde auch umfangreiches Linien- und Sortenmaterial aus dem Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung der Universität Gießen.

Einige der Morphin enthaltenden Sorten, die auch im Sortiment des Standortes Quedlinburg enthalten sind und bereits als morphinfrei charakterisiert worden waren, wurden ebenfalls als morphinfreie Formen bestimmt, so daß der Einfluß des Anbauortes auf das Merkmal "Morphinarmut/Morphinfreiheit" gering zu sein scheint. Dies ist jedoch anhand weiterer Untersuchungen noch zu bestätigen.

Weiterhin wurden durch das Bundessortenamt 4 Sorten von *Papaver somniferum* L. zur Untersuchung des Morphingehaltes der Kapseln übergeben, die an 4 Anbauorten in jeweils 4 Wiederholungen angebaut worden waren. Erweitert wurden die Untersuchungen zum Morphingehalt in den Blättern morphinreicher und morphinarmer Formen aus dem Freilandanbau, um zu prüfen, inwieweit schon im Jungpflanzenstadium eine Selektion auf den Morphingehalt möglich ist.

Die Arbeiten werden weitergeführt (BAZ-1208).

In Zusammenarbeit mit: Straka, Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

164

3.2. Entwicklung von Mikromethoden zur Isolierung und Quantifizierung ätherischer Öle von Kümmel, Fenchel und Pfefferminze - Development of micromethods for the isolation and quantification of essential oils in caraway, fennel and peppermint

Krüger, H.

Entwicklung von Methoden zur Charakterisierung ätherischer Öle aus kleinsten Pflanzenmengen

Die Entwicklungsarbeiten bezogen sich auf Mikroextraktions- und Mikrodestillationstechniken. Extraktionen zur Quantifizierung ätherischer Öle sind erfahrungsgemäß dann sinnvoll, wenn die Extrakte mit den Wasserdampfdestillaten inhaltlich vergleichbar sind und die Öle nur wenige Hauptbestandteile enthalten. Dies trifft für die Umbelliferen Kümmel, Dill (Hauptbestandteile jeweils Limonen und Carvon) und Fenchel (Hauptbestandteile Fenchon und trans-Anethol) zu. Für diese Arten wurden Vorschriften erstellt, welche auf Extraktionen ohne Abtrennung der Matrix zurückgrei-

zen in den Selektionszyklus einen größeren Selektionserfolg versprechen.

Menge und Qualität ätherischer Öle lassen sich nicht generell aus der Analytik pflanzlicher Extrakte ablesen. Für die sichere Identifizierung der ätherischen Ölbestandteile, die Beurteilung ihrer Rolle im Sekundärstoffwechsel wie auch für die qualitative Bewertung der Öle selbst ist es durchaus sinnvoll, eine destillative Abtrennung vorzunehmen. So hat es auch in der Vergangenheit für die Beurteilung kleiner Pflanzenmuster nicht an Versuchen gefehlt, diese Destillationsvariante zu miniaturisieren. Das Ergebnis waren stets aufwendige Spezialapparaturen (STAHL, FUCHS - 1968 - TAS-Verfahren, SUGISAWA et al. - 1984 - Trapping tube, GIESSELMANN, KUBECZKA - 1993 - Headspace Extractor), die für eine züchtungsspezifische Massenanalyse ungeeignet sind. Unsere Technik nutzt handelsübliche Festphasenkartuschen. In Abhängigkeit davon, ob leichter flüchtige Monoterpene in die Auswertung mit einbezogen werden sollen oder nicht, erfolgt die Wasser-

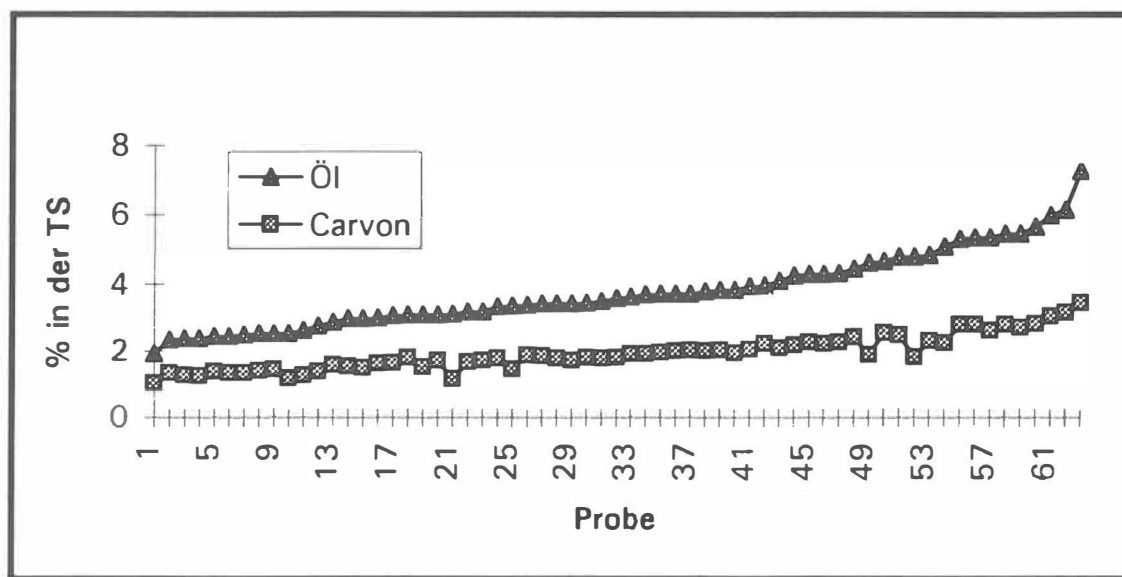


Abb. 1: Ätherische Öl- und Carvongehalte im Dillsortiment der Genbank Gatersleben

fen. Diese sind überwiegend besser reproduzierbar als klassische Wasserdampfdestillationen, obwohl die Einwaagen auf 100 bis 200 mg zurückgehen. Die Methode läßt sich auch auf einzelne Samen übertragen, die Ergebnisse sind dann aber nicht mehr repräsentativ für die ganze Pflanze. Eine alkalische Abtrennung organischer Säuren und fetter Bestandteile bringt bzgl. der Reproduzierbarkeit keinen Vorteil. Die Methodik wurde für die Sortimentssichtung von Fenchel, Dill und Kümmel der Genbank Gatersleben herangezogen, ebenso für die Frühselektion von Kümmelpflanzen im Grünreifstadium. Für Kümmel ist damit eine Voraussetzung für die Entwicklung von Selektionsverfahren gegeben, welche durch Wiedereinordnung regenerierfähiger Mutterpflan-

dampfdestillation mit oder ohne Kühlung der Festphase. Hierzu wird das konditionierte Röhrchen auf den Kopf gestellt. Die Droge wird an die darüberliegende Fritte gedrückt und Wasser von unten durch den Luer-Hahn geschoben. Nach Schließen des Hahnes wird die Säule unter Beibehaltung der Kopflege in den auf 106 bis 109°C vorgeheizten Trockenschrank gestellt oder unter Kühlung der Festphase in einen Thermostaten gehängt. Nach Ablauf der Destillationszeit läßt man erkalten, entfernt den Drogenrückstand und eluiert mit Hexan/Aceton (9:1). Es liegen Ergebnisse zu folgenden Drogen vor: Pfefferminze, Fenchel, Kümmel, Kamille, Thymian, Salbei, Bohnenkraut, Dost, Melisse, Estragon. Die Leistungsfähigkeit der angewandten Technik kann am Beispiel von Thymian demonstriert werden (Abb.3)

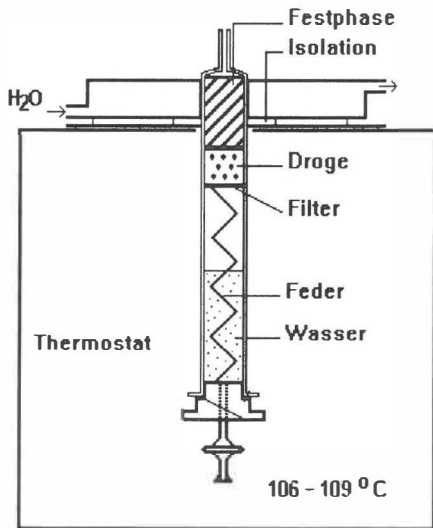


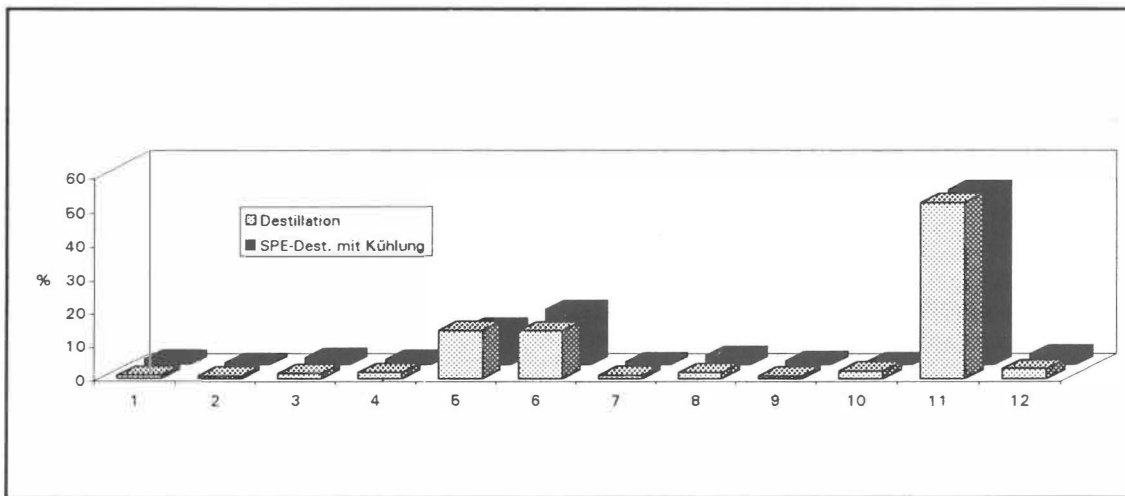
Abb.2: Wasserdampfdestillation in 3ml-Festphasenkartuschen mit Kühlung der Festphase

3.3. Charakteristik der Qualität von Ausgangsmaterial für die Pfefferminzzüchtung - Characteristics of the quality of basic material for peppermint breeding

Pank, F.; Hoberg, E.; Schrader, O.

Ziel des Forschungsvorhabens ist die Bewertung der Qualität verschiedener Pfefferminze-Genotypen zur Beurteilung ihrer Eignung als Donoren für qualitätsbestimmende Merkmale bei der weiteren züchterischen Bearbeitung.

Die Pfefferminzsorten 'Multimenta' (2 n = 96), 'Türkische Minze Nr. 27' (2 n = 66), 'BP 83' (2 n = 90), 'Prilukskaja I' (2 n = 92, 96), 'Nr. 36 A' (2 n = 96), 'Minze A' (2 n = 72, 66), 'Minze B' (2 n = 66), 'Grüne Minze' (2 n = 90), 'Mentholna' (2 n = 66) und 'Perpeta' (2 n = 66) wurden hinsichtlich ihrer Eignung als Ausgangsmaterial für die Pfefferminzzüchtung beurteilt. Neben der Ermittlung der Chromosomenzahl und der Einschätzung von Wachstum und Entwicklung wurden folgende Qualitätsmerkmale bestimmt: Blattanteil des Krautes, Gehalt der Blätter an ätherischem Öl, Komposition des ätherischen Öles (Menthol, Menthon, Isomenthon, Menthofuran,



	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Destillation	0,91	0,76	1,54	1,86	14,4	14,3	1,01	1,80	0,78	2,30	62,2	2,93
SPE-Dest. mit Kühlung	1,67	0,67	2,13	1,53	11,3	16,6	0,94	2,79	1,14	0,93	61,8	3,21

- | | | | | | |
|---|-------------|---|-------------|----|-----------------|
| 1 | n.b. | 5 | g -Terpinen | 9 | Borneol |
| 2 | a -Pinen | 6 | p -Cymol | 10 | β -Caryophyllen |
| 3 | Myrcen | 7 | n.b. | 11 | Thymol |
| 4 | a -Terpinen | 8 | Linalool | 12 | Carvacrol |

Abb.3: Vergleich der ätherischen Ölzusammensetzung von Thymian, bestimmt mittels Wasserdampfdestillation nach Deutschem Arzneibuch (DAB 10) und Mikrodestillation in Festphasenkartuschen mit Kühlung der Festphase

(BAZ-1207).

In Zusammenarbeit mit: Hammer, Genbank, Gatersleben

Menthylacetat, Pulegon, trans-Sabinenhydrat, Viridiflorol, Limonen und 1,8-Cineol). Es erfolgte die sensorische Bewertung des Teeaufgusses (Farbe, Geschmack, Geruch). 'Prilukskaja I' ist wegen unzureichender sensorischer Eigenschaften für die Produktion von Teedroge nicht geeignet. Günstig bewertet wird die sensorische Qualität von 'Türkische Minze Nr. 27', 'Mentholna' und 'Perpeta', gefolgt von 'Multimenta'. Hohe Erträge und Ölgehaltswerte der Sorten 'BP 83', 'Multimenta' und 'Grüne Minze' sind mit hohen Chromosomenzahlen

verbunden. Eine beschleunigte Entwicklung weisen 'Grüne Minze', 'Nr. 36 A' und 'Prilukskaja I' auf. Die höchsten Ölgehaltswerte erreichen 'Multimentha', 'Grüne Minze' und 'Nr. 36 A'. Der Mentholgehalt des ätherischen Öls liegt bei 'Minze A', 'Mentholna', 'Perpeta', 'Türkische Minze Nr. 27' und 'Minze B' im oberen Bereich. Der angestrebte Menthylacetatgehalt wird von 'Multimentha', 'Nr. 36 A' und 'BP 83' nicht erreicht. Die Kopplung hoher Chromosomenzahlen mit niedrigem Menthol- und hohem Menthongehalt wird nur bei 'Grüne Minze' durchbrochen (Abb. 1). Ein hoher Isomenthongehalt ist bei 'Nr. 36 A' zu verzeichnen. Der Gehalt an Menthofuran und Pulegon liegt bei allen Sorten im tolerierbaren Bereich. Als Zuchtmethodik zur Steigerung von Ertrag und Ölgehalt ist die Polyploidisierung besonders geeignet. Als Träger wertvoller Eigenschaften für die Kombinationszüchtung erscheinen die folgenden Sorten als besonders interessant: 'Grüne Minze' - Wüchsigkeit und Regenerationsfähigkeit bei gutem Mentholgehalt; der bei polyploiden Sorten im allgemeinen beobachtete negativ zu beurteilende niedrige Mentholgehalt tritt bei 'Grüner Minze' nicht in Erscheinung. 'Türkische Minze Nr. 27', 'Mentholna' und 'Perpeta' - gute sensorische Qualität des Teeaufgusses und hoher Mentholgehalt. 'Multimentha' - gute Wüchsigkeit und Resistenz gegen *Puccinia menthae* (BAZ-1210).

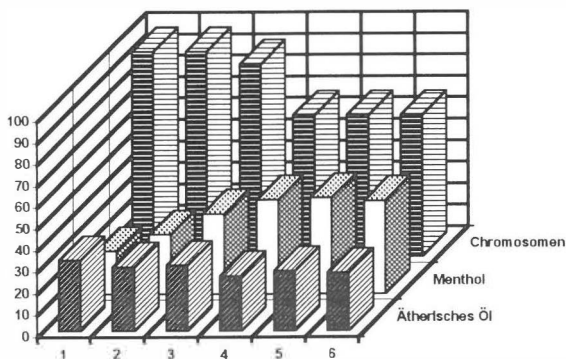


Abb. 1: Charakteristik von Pfefferminzsorten: Ätherisch-Ölgehalt der Blätter (%), in der Abbildung zehnfacher Wert), Mentholgehalt des ätherischen Öls (%) und Chromosomenzahl (2n). 1 = 'Multimentha', 2 = 'Nr. 36 A', 3 = 'Grüne Minze', 4 = 'Türkische Minze Nr. 27', 5 = 'Mentholna', 6 = 'Perpeta'

In Zusammenarbeit mit: Schmidt, Fa. Bell Flavor & Fragrances, Miltitz
166

4. Geschmacksbildende Inhaltsstoffe

4.1. Entwicklung sensorischer und instrumenteller Analysemethoden zur Beurteilung geschmacksbildender Merkmale von Zuchtmaterial der Erdbeere - Development of sensory and instrumental methods for the evaluation of taste producing features of strawberries

Hoberg, E.; Ulrich, D.

Die Erarbeitung von aufeinander abgestimmten Methoden der Züchtungsforscher und Analytiker soll den Selektionsprozeß auf Qualität dahingehend unterstützen, daß er objektiver und effektiver gestaltet wird.

Die Arbeiten bezogen sich im Berichtszeitraum insbesondere auf die Weiterentwicklung der analytischen Methoden, den Aufbau eines sensorischen Panels für die Erdbeerbewertung sowie die Datengewinnung und -analyse von Sorten, Wildformen und Zuchtmaterial als weiterer Schritt zur Entwicklung von züchtungsspezifischen Methoden für die Analytik geschmacksbildender Inhaltsstoffe der Erdbeere.

Bei allen untersuchten nichtflüchtigen geschmacksbildenden Inhaltsstoffen in einer Population von Kreuzungsnachkommen aus dem Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz der BAZ wurden große Schwankungen zwischen den Einzelpflanzen festgestellt. Weniger im Gesamtzuckergehalt, sondern deutlicher bei den einzelnen Hauptzuckern Saccharose (1,00 bis 2,24 g/100g FM), Glucose (1,52 bis 2,77 g/100g FM) und Fructose (1,74 bis 2,77 g/100g FM) traten die Unterschiede auf. Bei den wichtigsten Fruchtsäuren der Erdbeere, Citronen- und Äpfelsäure, wurden 615 bis 1160 mg/100g FM bzw. 152 bis 370 mg/100g FM gemessen. Die für die Konsistenz wichtige Trockenmasse (gravimetrisch ermittelt) streute zwischen 9 und 16 %. Wiederholungsuntersuchungen an derselben Population spiegelten den Einfluß des Erntezeitpunktes wider. Bemerkenswert ist auch der teilweise recht hohe, den Geschmack unangenehm beeinflussende Oxalsäuregehalt mit bis zu 299 mg/100g FM.

Die flüchtigen Inhaltsstoffe (Aromakomponenten) wurden mit Hilfe der Flüssigextraktion und anschließender gaschromatografischer Analyse untersucht. Die Liste der untersuchten Aromakomponenten wurde nach GC/MS-Analyse und Schnüfflexperimenten im Vergleich zum Vorjahr auf insgesamt 23 Substanzen erweitert. Es zeigte sich, daß im geprüften Erdbeersortiment verschiedene Typen von Aromamustern unterschieden werden können. Während die Walderdbeere wenige freie flüchtige Säuren und Furaneol, jedoch hohe Konzentrationen an Eugenol, also würzigen Aromastoffen, enthält, wird das Aromamuster von *Fragaria virginiana* durch einen hohen Estergehalt charakterisiert. Einige Kulturerdbeersorten weisen ein relativ armes Muster mit hohen Gehalten an Buttersäure, Furaneol und Mesifuran auf. Diese Inhaltsstoffe können in hohen Konzentrationen den Charakter von Negativkomponenten, sog. "Off-Flavours", annehmen. Zur Vereinfachung der Aromaanalyse mit der Zielstellung der Schaffung von Schnellmethoden wurden zur Erfassung von Leitsubstanzen verschiedene Methoden der Probenvorbereitung getestet. Mit Hilfe der Festphasenextraktion (Closed-loop-stripping) ist es möglich, leichtflüchtige Substanzen zu erfassen, während die Mikro-Festphasenextraktion (SPME) zur Analyse schwerflüchtiger Komponenten eingesetzt wurde.

Die Hauptprobleme bei der sensorischen Analyse von Zuchtmaterial bestehen in der Notwendigkeit, innerhalb einer kurzen Zeitspanne eine große Individuenzahl an wenig Material prüfen zu müssen. Wegen der starken Variabilität des Geschmackseindrucks auch an einem

Genotyp in Abhängigkeit vom Erntetermin während einer Reifeperiode ist es praktisch nicht möglich, einen Vergleichsstandard zu nutzen. Mit der vom Prüferpanel erprobten absoluten Bewertung verschiedener geschmacksbestimmender Komponenten wurden in der Regel reproduzierbare Ergebnisse erzielt. Inwiefern die große Differenz zwischen instrumentell gemessenem Zucker-Säure-Verhältnis zu dem sensorisch wahrnehmbaren bei der Walderdbeere und einer Probe FLORIKA (Abb. 1) auf die Zuckerzusammensetzung oder auf das Zusammenwirken aller geschmackgebenden Inhaltsstoffe zurückzuführen ist, wird mit weiteren in Arbeit befindlichen sensorischen Methoden ermittelt. (BAZ-1211)

4.2. Entwicklung von Methoden zur Bestimmung der Aromastoffe in Gemüse - Development of methods for the determination of aroma compounds in vegetables

Ulrich, D.; Rapp, A.

Entwicklung von spezifischen Methoden zur Analytik der geschmacksbildenden Inhaltsstoffe von Zuchtmaterial, insbesondere bei der Schaffung von resistentem Basismaterial mit guten sensorischen Eigenschaften

Mit Hilfe der Flüssigextraktion, der Festphasenextraktion (Closed-loop-stripping) und der Mikrofestphasenextraktion wurden Aromastoffe aus Möhre, Spargel und Kartoffel isoliert und gaschromatogra-

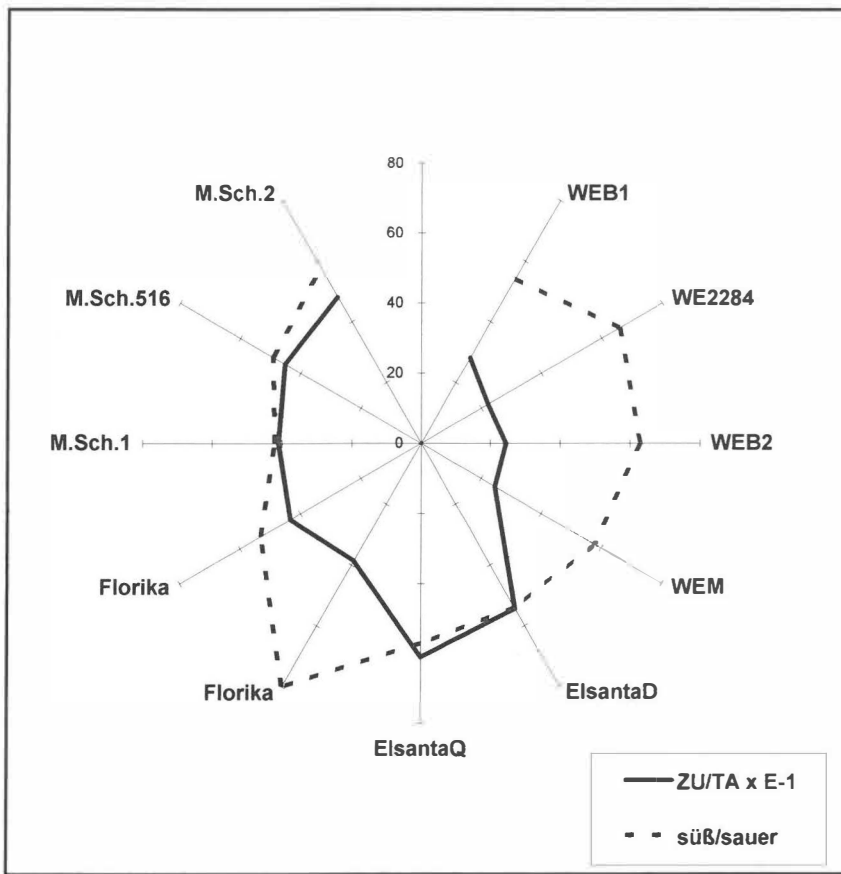


Abb. 1: Vergleich der instrumentellen und sensorischen Bewertung des Zucker-Säure-Verhältnisses in *Fragaria vesca* und Kulturerdbeeren.

Erläuterungen: WE - *Fragaria vesca*, M. SCH. - Mieke Schindler; instrumentell ermitteltes Zucker-Säure-Verhältnis - süß/sauer

In Zusammenarbeit mit: Dathe, BAZ, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz; Rapp, BAZ, Inst. f. Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen; Hammer, Genbank, Gatersleben; Schäfer, Lehr- und Versuchsanstalt, Quedlinburg

167

phisch-massenspektrometrisch untersucht. Die Anwendung der Schnüffeltechnik zeigte, daß die für das jeweilige Aroma charakteristischen Inhaltsstoffe mit Hilfe der Flüssigextraktion erfaßt werden können. Aromaextrakt-Verdünnungsanalysen wurden ausgeführt, um Schlüsselkomponenten und eventuell vorhandene Off-flavours zu ermitteln.

In Zusammenarbeit mit: Rapp, BAZ, Inst. f. Rebenzüchtung Geilweilerhof, Siebeldingen; Tiemann, BAZ, Inst. f. Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen, Groß Lüsewitz; Nothnagel, BAZ, Inst. f. Züchtungsmethodik bei Gemüse, Quedlinburg

168

Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse Quedlinburg

Im Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse werden Forschungsarbeiten mit einer weitgespannten methodischen Breite zu genetischen, pflanzenphysiologischen, biochemischen und molekularbiologischen Aspekten bearbeitet. Ziel ist die Entwicklung und Optimierung von Züchtungsmethoden für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzen sowie die Durchführung von Forschungsprojekten mit Modellcharakter für andere Kulturpflanzenarten. Die Forschungsschwerpunkte gliedern sich in die vier Arbeitsgruppen "Hybridforschung", "Selektionstheorie - Markergestützte Selektion", "Zytogenetik" und "Molekularbiologie/Gentechnik".

1. Hybridforschung

1.1. Entwicklung von Methoden für die Herstellung und Selektion von interspezifischen und intergenerischen Bastarden bei *Brassicaceae* (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*) und ihre isoenzymanalytische und zytologische Charakterisierung in Kombination mit Aphiden-, Virus- u.a. Resistenztests - Development of methods for production and selection of interspecific and intergeneric hybrids in *Brassicaceae* (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*) and their characterization by isoenzymes and cytological methods in combination with virus, aphid and other resistance tests

Clauß, E.; Straka, P.; Schrader, O.; Ahne, R.

Biochemische und cytogenetische Charakterisierung von neuen synthetischen Gemüserapsformen, RRCC-/RRAA-Raphanobrassica- und Raphanus-Sinapis-Bastarden zur Erfassung der genetischen Variabilität unter dem Aspekt der Selektion resistenter Genotypen (TuMV, Grüne Pfirsichblattlaus, Mehlig Kohlblattlaus, Alternaria, Phoma, Plasmodiophora, Rübennematoden)

Brassica-Artkreuzungen führten zu einem neuen Typ der synthetischen Art *Brassica x napoleracea* (AACCCC, $2n=56$; Chinakohl x Grünkohl), der eine potentielle neue Gemüseform mit stark gekraustem Blatt und ausgezeichneter Geschmacksqualität darstellt. Der Bastardtyp wird insbesondere unter dem Aspekt verbesserter Fertilität weiterbearbeitet. Des weiteren konnten aus einem RRCC-*Raphanobrassica*-Bastardtyp (Futterrettich-Blumenkohl) chromosomal instabile Pflanzen selektiert werden, aus denen als Ergebnis sukzessiver Eliminierung der C-Genom-Chromosomen bei gleichzeitiger intergenomischer Übertragung des Merkmals "Glattblättrigkeit" vom C- auf das R-Genom ein glattblättriger (unbehaarter) Futterrettich erhalten wurde; für die Tierfütterung stellt der Wegfall der Behaarung des Futterrettichs eine wertvolle Verbesserung für die Akzeptanz als Futterpflanze dar. An den aus vorangegangenen Kreuzungen zwischen nematodenresistenten Genotypen von *Raphanus sativus* (Ölrettich) und *Sinapis alba* erhaltenen *Raphanosinapis*-Bastarden (RRSS, $2n=42$) konnte die Fertilität soweit verbessert werden, daß ausreichend Saatgut zur Verfügung steht für vergleichende Resistenzprüfungen an den

neuen Allotetraploiden und den Elterngenotypen sowie für Rückkreuzungs-/Kreuzungsversuche mit beiden Elternarten bzw. Raps. Außerdem wurden unter RRAC-*Raphanobrassica*-Bastarden (Kreuzung RRAA x RRCC) und in deren Nachkommenschaft 23 hoch nematodenresistente Pflanzen gefunden, an denen sowohl Selbstungs- und Geschwisterkreuzungen als auch zur Übertragung der Resistenz durchgeführte reziproke Kreuzungen mit Raps erfolgreich verliefen. Die Pflanzen aus den 938 erhaltenen Samen (Kreuzungsumfang insgesamt 8700 Bestäubungen) werden z.Z. erneut auf Nematodenresistenz geprüft. Die 1993 begonnenen Resistenzprüfungen (TuMV, *Alternaria*, *Phoma*, *Plasmodiophora*, Aphiden) an *Brassica*-Art- und -Gattungsbastarden (AACC, RRCC, RRAA) und ihren Elterngenotypen sowie an F₁-Nachkommenschaften von bereits als resistent selektierten Einzelpflanzen wurden in Gewächshaus- und Freilandversuchen, u.a. mit neuen Pathogenisolaten, fortgesetzt. So konnte z.B. TuMV-Resistenz in 4 RRCC-*Raphanobrassica*-Formen sowie in den F₁-Nachkommenschaften resistenter Einzelpflanzen von 6 synthetischen Gemüserapsformen (AACC) mit neuen Isolaten bestätigt werden. Von *Phoma*- bzw. *Plasmodiophora*-resistenten Einzelpflanzen, die aus 23 verschiedenen AACC-, RRAA- und RRCC-Bastardformen selektiert wurden, werden z.Z. Nachkommenschaften erzeugt. (BAZ-1305)

In Zusammenarbeit mit: Proeseler, BAZ, Inst. f. Epidemiologie und Resistenz, Aschersleben; Krämer, Scholze, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg; Enderlein, Fa. NPZ, Hohenlieth/Malchow

169

- 1.2. Untersuchungen zum Glucosinolat- und Fettsäuregehalt bei Brassicaceae-Art- und -Gattungsbastarden (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*) für die Entwicklung und Selektion von neuem, züchterisch relevantem Ausgangsmaterial**
 - Investigations of the glucosinolate and fatty acid content in interspecific and intergeneric hybrids of Brassicaceae (*Brassica*, *Raphanus*, *Sinapis*) 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 Genomkombinationen und intergenomatischer Merkmalsübertragung hinsichtlich Glucosinolat- und Fettsäuregehalt-/metabolismus und Selektion von Genotypen mit spezifischen Qualitätsparametern

Nach der Entwicklung und Erprobung geeigneter Analysemethoden zur Bestimmung des Glucosinolatgehaltes bei Brassicaceen-Material (Grünmasse: HPLC-Routinemethode; Samen: Schnellmethode für Gesamtgehalt und Halbkornmethode u.a. für Einzelglucosinolat-Bestimmung) wurden Analysen an Grünmasse und Samen von 20 Art- und Gattungsbastarden (synthetische Gemüserapse AACC, RRCC-/RRAA-*Raphanobrassica*) sowie 17 Elterngenotypen durchgeführt. Außerdem wurden zur Ermittlung der genetischen Variabilität und unter Evaluierungsaspekten u.a. von *Brassica oleracea* 17 Herkünfte (Wild-/Primitivformen) von den Kanarischen Inseln (Teneriffa, El Hierro) und Madeira in die Analysen einbezogen. Ziel der Untersuchungen ist es, Grundlagen für sensorische Prüfungen zur Klärung des Einflusses des Glucosinolatgehaltes (quantitativ und qualitativ) auf die Geschmacksqualität und für die Selektion ernährungsphysiologisch und geschmacklich wertvoller Gemüse-Genotypen aus dem Bastardmaterial zu schaffen. Die vorliegenden Analyseergebnisse weisen bereits auf eine außerordentlich hohe Variabilität im Glucosinolatgehalt sowohl in quantitativer als auch qualitativer Hinsicht hin. An Pflanzenmaterial aus dem Gewächshaus- und Freilandanbau von 49 Brassicaceen-Bastardformen (synthetische Gemüserapse, AAAA- und AACCCC-Artbastarde, RRCC-/RRAA-*Raphanobrassica*, AARRCC-Dreiarbasterde) sowie von 31 Elterngenotypen wurden Bestimmungen des Gehaltes an Vitamin C, β -Carotin, Äpfel-, Citronen-, Fumar-, Wein- und Oxalsäure durchgeführt. Mit Hilfe statistischer Methoden ließ sich der Umfang des Einflusses der Kreuzungspartner auf die Säuregehalte der Bastarde nachweisen. An entsprechendem Pflanzenmaterial aus dem Freiland-Herbstanbau erfolgten sensorische Untersuchungen mit Hilfe der Rangordnungsprüfung hinsichtlich der Beliebtheit in Form von Rohverkostung (Blatt-/Blattstielgemüse) und als Kochgemüse (Grünkohl-Bastarde). Zwischen den Fruchtsäuren und der Geschmacksrichtung der Bastarde besteht offenbar ein definierbarer Zusammenhang. Nach den vorliegenden Ergebnissen befinden sich unter dem Bastardmaterial potentielle neue Gemüseformen, die im Vergleich zu den

herkömmlichen *Brassica*-Gemüsen neben besonderer Wüchsigkeit und Widerstandsfähigkeit verbesserte geschmackliche Eigenschaften bei gleichzeitig hohem ernährungsphysiologischem Wert besitzen. (BAZ-1306)
 In Zusammenarbeit mit: Schütze, Ulrich, BAZ, Inst.f. Qualitätsanalytik, Quedlinburg; Chao, Univ. Kiel
 170

- 1.3. Molekulargenetische Charakterisierung und Untersuchung der genetischen Stabilität von Brassica/Raphanus-(OGURA)-Bastarden mit dem Ziel der Entwicklung eines nebenwirkungsfreien cms-Systems für die Gemüsekohlzucht**
 - Molecular genetic characterization and investigation of genetic stability of Brassica/Raphanus (OGURA) bastards with the aim to develop a cms-system for cabbage breeding
 Nothnagel, Th.; Budahn, H.

Entwicklung eines für die Gemüsekohlzucht nutzbaren, nebenwirkungsfreien cms-Systems auf der Basis des OGURA (Raphanus)-Cytoplasmas

Für die 1993 selektierten 2 cms-Blumenkohlpflanzen mit *Brassica oleracea*-pt-Genom und einem rekombinierten mt-Genom aus *B. oleracea*- und OGURA-Anteilen erfolgte eine weitere molekulargenetische Charakterisierung. Southern-Hybridisierungen mit verschiedenen mitochondrialen Sonden zeigten für *coxII* und *atp9* ein *B. oleracea*-spezifisches Hybridisierungsmuster, dagegen für *D23* und *coxIII* ein OGURA-spezifisches Muster. Für die mtDNA-Sonde *cob* konnte ein Hybridisierungsmuster erhalten werden, das weder mit *B. oleracea* noch mit OGURA übereinstimmte (Rekombination). Darüber hinaus traten Segregationen im *atpA*-Muster auf. Während das *atpA*-Muster in der ersten Rückkreuzungsgeneration der Summe beider Eltern entsprach, segregierte in der zweiten Rückkreuzung das *B. oleracea*-Muster und war nur noch in der Hälfte der untersuchten Pflanzen nachweisbar. Bis auf diese Ausnahme konnte in der zweiten Rückkreuzungsgeneration (60 Pflanzen) eine stabile Vererbung des rekombinanten mt-Genoms nachgewiesen werden. Die erfolgte molekulare Charakterisierung läßt bisher keine Quantifizierung des eingebauten OGURA-Fragmentes zu. Bei allen untersuchten Pflanzen war das Merkmal 'männliche Sterilität' stabil ausgeprägt. Weitere Nebenwirkungen des rekombinierten mt-Genoms waren phänotypisch nicht nachweisbar. Unter Gewächshausbedingungen zeigten die Pflanzen im Vergleich zu *B. oleracea*-Standards nach manueller Bestäubung eine normale Schotenentwicklung mit normalem Samenansatz (4 bis 8 Körner). Präparierte Blüten wiesen meist 4 normal entwickelte Nektarien auf. Ein Freilandversuch zur Erfassung des Samenansatzes war aufgrund von Hagelschlag während der Blühphase nicht auswertbar. Das Rückkreuzungsprogramm zur Entwicklung von cms-Linien für verschiedene Kohlvarietäten wurde weitgehend abgeschlossen. Für Blumen-, Weiß-, Rot- und Wirsingkohl liegt Material der 2. Rückkreuzungsgeneration, für Rosen- und Grünkohl sowie Kohlrabi und Brokkoli Material der 1. Rückkreuzungsgeneration für züchterische Zwecke vor. (BAZ-1307) 171

1.4. Entwicklung von *sinapis*-plasmatischen Gemüse-kohl-Linien (*Brassica oleracea*) als potentielle Quellen cytoplasmatischer männlicher Sterilität - Development of *sinapis*-plasmatic *Brassica oleracea* lines as a source of cytoplasmic male sterility

Nothnagel, Th.; Budahn, H.

Entwicklung eines cms-Systems für die Gemüsekohlzüchtung auf der Basis von Sinapis-Brassica-Fusionsprodukten

Bereits 1993 konnten aus der Protoplastenfusion stammende *Brassica oleracea*/*Sinapis alba*-Bastarde (F₁) mit tetraploiden *B. oleracea* rückgekreuzt werden. Die molekulare Charakterisierung der Cytoplasmen der erhaltenen Rückkreuzungspflanzen (BC1F1) wurde abgeschlossen. In den meisten Fällen war eine stabile mütterliche Vererbung der Organellen-Genome nachweisbar, in wenigen Fällen aber auch Segregationen im Mitochondrien- oder Plastiden-Genom. Die manuelle Selbstung von männlich fertilen BC1F1-Pflanzen (BC1F2) sowie die Rückkreuzung männlich steriler Pflanzen mit diploiden *B. oleracea* wurde fortgesetzt. 50 Pflanzen aus Selbstungsnachkommenschaften (BC1F2) konnten bereits analysiert werden. Für alle Pflanzen war eine stabile mütterliche Vererbung der Organellen-Genome (ptDNA, mtDNA) nachweisbar. Neben morphologischen Merkmalen wie z. B. Behaarung, Blattform, Blütenfarbe, Nektarien, welche auf ein Vorhandensein und die Wirksamkeit von *Sinapis*-Genomanteilen (Chromosomen) hindeuten, ließen sich darüber hinaus mittels Isoenzymanalyse (LAP) *sinapis*-spezifische Bandenmuster nachweisen. Stichprobenartige cytologische Untersuchungen (Meiose) zeigten Chromosomenzahlen um die 30. Mehrfach wurden Quadrivalente gefunden, die auf eine mögliche Paarung zwischen *Brassica*- und *Sinapis*-Chromosomen und damit auf einen möglichen Genaustausch hindeuten. Erste Resistenzprüfungen gegenüber *Alternaria brassicicola*, *Alternaria brassicae* und *Phoma lingam* zeigten in dem Bastardmaterial ein stark variierendes Resistenzniveau. Während *Sinapis alba*-Standards eine vollständige Resistenz gegen alle drei Pathogene aufwiesen, waren BC1F2-Bastarde mit Einfach-, Doppel- und Dreifach-Resistenz selektierbar. *B. oleracea*-Standards waren hochgradig anfällig. Von resistenten Genotypen konnte bereits Selbstungssaatgut gewonnen werden. (BAZ-1308)

In Zusammenarbeit mit: Ryschka, Scholze, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

172

1.5. Entwicklung neuer Quellen der cytoplasmatischen männlichen Sterilität (cms) für die Hybridzüchtung der Speisemöhre (*Daucus carota sativus* Hoffm.) - Development of new sources of cytoplasmic male sterility (cms) for hybrid breeding of carrots (*Daucus carota sativus* Hoffm.)

Nothnagel, Th.; Straka, P.; Budahn, H.

Bei der Evaluierung von *Daucus*-Arten wurde bereits 1993 in der Wildart *Daucus carota maritimus* (Lam.)

Batt. eine männlich sterile Pflanze gefunden und mit *D. c. sativus* (Kulturmöhre) rückgekreuzt. Phänotypisch waren die Blüten durch grün-weiße Blütenblätter und die Umwandlung von Antheren zu blütenblattähnlichen Strukturen charakterisiert, vergleichbar mit dem in der Züchtung genutzten 'petaloiden' Sterilitätstyp (Cytoplasma aus *D. c. carota* L.). Vergleichende Southern-Hybridisierungen mit mtDNA-Sonden (*coxII*, *coxIII*, *atp6*) ließen eine eindeutige Differenzierung des neuen *maritimus*-Cytoplasmas zu den bereits züchterisch genutzten cms-Cytoplasmen ('brown anther'; 'petaloid') sowie zum 'gum'-Typ (BAZ-Entwicklung) zu. Die Analyse einer 107 Pflanzen umfassenden F₁-Nachkommenschaft ergab 100% männlich sterile (ms) Pflanzen mit beschriebenem Phänotyp. 20 ms-Pflanzen wurden mit je zwei verschiedenen Bestäubern rückgekreuzt (BC1). Nach Kübelanzucht und Vernalisation war bereits eine Selektion auf Wurzelfarbe möglich. Die nach Farben selektierten Gruppen wurden separat aufgezogen. Insgesamt konnten bisher 353 BC1-Pflanzen ausgewertet werden. Alle Pflanzen waren männlich steril, was bisher auf eine cytoplasmatisch bedingte männliche Sterilität hindeutet. Ein Teil der Pflanzen mit orangefarbener Wurzel wurde mit 4 verschiedenen Bestäubern rückgekreuzt, um potentielle Genotypen mit Restorerogenen zu finden. BC2-Material befindet sich bereits in der Anzucht und wird 1995 analysiert. (BAZ-1309)

In Zusammenarbeit mit: Linke, Inst. f. Genetik, Humboldt-Universität, Berlin

173

1.6. 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 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 the selection, breeding and production of interspecific and intergeneric hybrids. Development of determination methods

Straka, P.; Claus, E.; Nothnagel, Th.; Peterka, H.

Ziel ist es, Voraussetzungen für die Nutzung von Isoenzym- und Proteinpolymorphismen als Marker bzw. zur Charakterisierung und Identifizierung von Zuchtmaterial zu schaffen.

Es wurden unterschiedliche Isoenzymssysteme zur Charakterisierung von Pflanzenmaterial, insbesondere bei *Brassica*, *Sinapis*, intraspezifischen sexuellen Kreuzungsnachkommenschaften sowie Pflanzen aus der Protoplastenfusion *Brassica/Sinapis*, entwickelt. Mit dem Ziel, die Nutzbarkeit der Isoenzymanalytik in der Hybridzüchtung bei *Brassica* aufzuzeigen, wurden Ausgangslinien sowie ihre Kombinationen analysiert. Die Isoenzyme der Esterase, Aspartataminotransferase, Leucinaminopeptidase und Diaphorase erwiesen sich als geeignet, die Hybridisierung bzw. Selbstung nachzuwei-

sen. Unter Berücksichtigung der Zymotypen der Ausgangslinien in der Hybridzüchtung ist die Analyse von Isoenzymen eine gute Methode, Hybridisierungen und Selbstungsanteil in Sorten zu bestimmen.

Pflanzen aus der Protoplastenfusion von *Brassica* und *Sinapis* sowie ihre Nachkommenschaften wurden hinsichtlich des Anteils genetischer Information von *Sinapis* mittels Isoenzymanalytik untersucht. Es wurden ausgewählte Isoenzyme analysiert und eine Methode entwickelt, die es erlaubt, Isoenzyme der Leucinaminopeptidase als Marker zu nutzen. Aufspaltungen in den Nachkommenschaften wurden nachgewiesen. (BAZ-1315)

174

1.7. Untersuchungen zum Morphingehalt bei Mohn (*Papaver somniferum* L.) als Grundlage für die Entwicklung morphinarmer/morphinfreier Mohnformen - Investigation of the morphine content of *Papaver somniferum* L. as a basis for the development of low-morphine or morphine-free types of poppy

Straka, P.; Nothnagel, Th.; Ahne, R.

Entwicklung charakterisierter morphinarmer/morphinfreier Formen von Papaver somniferum L. auf der Grundlage erarbeiteter Kenntnisse der Vererbung des Morphingehaltes zur Nutzung als Basismaterial für die Sortenzüchtung

Der Morphingehalt unterschiedlicher Sorten wurde mittels HPTLC analysiert. In allen Sorten wurden Einzelpflanzen nachgewiesen, deren Morphingehalt unter dem vom BGA geforderten Grenzwert von 0,01% Morphin in der Trockenmasse lag. Für die selektierten Einzelpflanzen erfolgte ein Linienaufbau. Mit dem Ziel, Hinweise auf die Genetik der Vererbung des Morphingehaltes zu erhalten, wurden Kreuzungen zwischen morphinreichen und morphinarmen Einzelpflanzen durchgeführt. Der Morphingehalt der F₁-Generation wurde analysiert. Der Anbau der F₂ ist für 1995 vorbereitet. (BAZ-1316)

In Zusammenarbeit mit: Schütze, BAZ, Institut für Qualitätsanalytik, Quedlinburg

175

2. Selektionstheorie - Markergestützte Selektion

2.1. 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.

Erstellung einer Genkarte der Erbse durch Anwendung molekularer Marker als Grundlage für die markergestützte Selektion

Durch Computersimulation kann das Auflösungsvermögen eines geplanten Kartierungsexperiments ermittelt und auf die erforderliche Schärfe eingestellt werden. Es wurden Simulationsversuche zur Kartierung von geni-

schon Markern und QTL's durchgeführt, um den Einfluß des Kopplungstyps (Attraktion oder Repulsion) von dominanten RAPD-Markern auf die Kartierungsgenauigkeit zu bestimmen. Mit Hilfe des Programms GREGOR wurden künstliche Populationen für genetisch definierte Situationen bezüglich Populationsgröße, Genomstruktur sowie Anzahl, Lage und Dominanzverhalten von Markern erzeugt. Die vorgegebenen 'wahren' Kopplungsgruppen wurden den Ergebnissen gegenübergestellt, die mit den Kartierungsprogrammen MAPMAKER und JOINMAP erhalten wurden. Weiterhin wurden QTL's mit definierter Lage, Größe der additiven und Dominanzeffekte sowie vorgegebenen Heritabilitäts-Werten (h^2) simuliert, die der erwarteten genetischen Situation im Experiment zur Markierung des Resistenzgens *sbm-1* (gegen das pea seedborne mosaic virus) an Hand von ELISA-Werten bei *Pisum sativum* entsprechen. Die Auswertung der Daten erfolgte mit MAPMAKER/QTL. Die Unterschiede in der Kartierungsgenauigkeit zwischen RFLP- und dominanten RAPD-Markern waren vom Kopplungstyp abhängig. Wenn sich dominante Marker in Attraktionsphase befinden, sind die Unterschiede zur Kartierung mit kodominanten Markern gering. Dagegen traten unter den gewählten Bedingungen bei der Repulsionsphase deutliche Abweichungen von den vorgegebenen Daten in den Abständen zwischen Markern bis zu Vertauschungen der Markerpositionen auf. Die mit den Programmen MAPMAKER und JOINMAP aus denselben Populationen rekonstruierten Kopplungsgruppen waren nicht identisch. Gekoppelte QTL's wurden durch MAPMAKER/QTL getrennt ausgewiesen. Bei Kopplung von QTL's sind die Scan-Resultate für die einzelnen QTL's nicht unabhängig, insbesondere wenn ihre Allele dispers verteilt sind. In diesem Fall wurden die Lodscore-Werte stark vermindert, und der Abstand zwischen zwei gekoppelten QTL's wurde überschätzt. Die Simulationsexperimente ergaben, daß für eine Kartierung des Gens *sbm-1* durch qualitative Symptomklassifizierung oder als QTL anhand der ELISA-Werte eine F₂-Stichprobengröße von $n = 100$ ausreicht.

In der Kartierungspopulation F₂(173 x 172) wurde begonnen, molekulare Marker (RAPD's) den 7 Kopplungsgruppen von *Pisum sativum* zuzuordnen. Diese Population spaltet für die morphologischen Marker *D<co* (Kopplungsgruppe 1), *s* (2), *Td* (3), *r* (5), *U<st* (5), *Arg* (6), *wlo* (6), *Pl* (6). Von den ersten 60 genutzten Operon-Primern ergaben 55 Primer Amplifikationsprodukte, wobei 45 klare Polymorphismen bonitiert wurden (Polymorphiegrad = 0,8/Primer). In die Kartierung wurden bisher 13 RAPD-Marker zusammen mit den morphologischen Ankerloci einbezogen. Mit Hilfe des Programms MAPMAKER wurde für die Kopplungsgruppe 6 die relative Positionen von 5 Markerloci und einem Resistenzlocus bestimmt. (BAZ-1303)

176

2.2. Markergestützte Selektion auf Virusresistenz bei Gemüseerbse (*Pisum sativum* L.)

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

Peterka, H.; Budahn, H.

Einsatz molekularer Marker für die Selektion virusresistenter Genotypen

Insgesamt 111 F₂-Pflanzen aus der Kreuzung der PSbMV-anfälligen Linie E173 und der Linie 172, die das rezessive Gen *sbm-1* für PSbMV-Resistenz auf Chromosom 6 besitzt, wurden im Gewächshaus mechanisch inokuliert. Alle Pflanzen ohne Symptome wurden geselbstet und jeweils 10 Pflanzen je F₃-Familie nochmals künstlich infiziert. Die Klassifizierung in bezug auf das Resistenzverhalten ergab für die F₂-Generation das erwartete monogene Spaltungsverhältnis von 82 anfälligen und 29 resistenten Pflanzen. Die Klassifizierung erfolgte nach den typischen Symptomen - Mosaik, Blattrollen, depressiver Wuchs und Verbräunung der Testa - sowie nach den ermittelten ELISA-Werten. Die RAPD-Analyse mit den ersten 10 verwendeten Primern erbrachte 9 auswertbare Polymorphismen, die jedoch nicht mit dem Locus *sbm-1* gekoppelt waren. Durch Anwendung der Bulk Segregant Analysis mit weiteren 50 Primern wurden 2 Kandidaten gefunden, die deutliche Differenzen zwischen den anfälligen und resistenten F₂-Bulks aufwiesen (Abb. 1).

Die Kopplungsanalyse an 110 F₂-Einzelpflanzen mit Hilfe des Programms LINKAGE-1 zeigte, daß beide RAPD-Marker tatsächlich mit *sbm-1* gekoppelt sind. Der genetische Abstand zu *sbm-1* beträgt für die Marker OPA15₁₀ und OPB01₁₆₆₀ 17 bzw. 7 cM. (BAZ1310)

In Zusammenarbeit mit: Kühne, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben

177

2.3. 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.

Erweiterung der genetischen Variabilität bei Gemüseformen von Allium durch interspezifische Introgression

Artkreuzungen zwischen *Allium*-Arten sind von züchterischem Interesse, um Resistenzeigenschaften zu übertragen und um cytoplasmatische männliche Sterilität auszulösen. Wegen der ausgeprägten Kreuzbarkeitsbarrieren in der Gattung *Allium* wurden Untersuchungen des Pollenschlauchwachstums und zur Entwicklung des Embryosackes nach Artkreuzungen durchgeführt. Folgende Kreuzungskombinationen wurden untersucht: *A. schoenoprasum* x *A. ampeloprasum*, *A. cepa* x *A. ampeloprasum*, *A. schoenoprasum* x *A. cepa*, *A. schoenoprasum* x *A. tuberosum*. Bei diesen Artkombinationen war Hemmung des Pollenschlauchwachstums im Griffel keine Inkompatibilitätsursache. Mit Hilfe von Fluores-

zenzmikroskopie wurden in 227 untersuchten Griffeln nach Bestäubung von *A. schoenoprasum* mit Pollen von *A. tuberosum* im Mittel 17,6 Pollenschläuche je Griffel und nach Selbstung von *A. schoenoprasum* 16,4 Pollenschläuche (130 untersuchte Griffel) beobachtet. Die Anzahl der Pollenschläuche am oberen Teil des Griffels verringerte sich zur Griffelbasis (14,9 bzw. 11,1 Pollenschläuche) bei Bestäubung mit Fremdpollen etwas stärker. Nur etwa 20 % der Pollenschläuche sowohl bei Selbstung als auch nach Kreuzung verließen die Griffelbasis (2,4 bzw. 2,3 Pollenschläuche). Progame Inkompatibilität wirkt erst während des weiteren Schlauchwachstums von der Griffelbasis zur Mikropyle. So drangen bei der Kreuzung *A. schoenoprasum* x *A. tuberosum* im Mittel nur 0,1 Pollenschläuche je Fruchtknoten in die Mikropyle ein, während es bei Selbstung von *A. schoenoprasum* 1,3 Pollenschläuche waren. Mikropylpenetration von Pollenschläuchen wurde in allen untersuchten interspezifischen Kreuzungen beobachtet. Mit Hilfe einer Clearing-Technik und unter Einsatz von Differentieller Interferenzkontrast-Mikroskopie (DIC) wurde die weitere Entwicklung in befruchteten Embryosäcken verfolgt. Befruchtung zeigte sich 12 Tage nach Bestäubung durch Bildung freier Endospermkerne und globulärer Embryonen. Nach Kultur von Samenanlagen *in vitro* wurden erstmals Bastardpflanzen aus den Kreuzungen *A. schoenoprasum* (2x/CMS, 4x) x *A. ampeloprasum*, *A. schoenoprasum* (2x/CMS) x *A. cepa* und *A. cepa* (CMS) x *A. ampeloprasum* erhalten. Der Bastardcharakter der Pflanzen wird anhand von Vergleichen der RAPD-Muster und durch chromosomale Analysen bestätigt (Abb. 1).

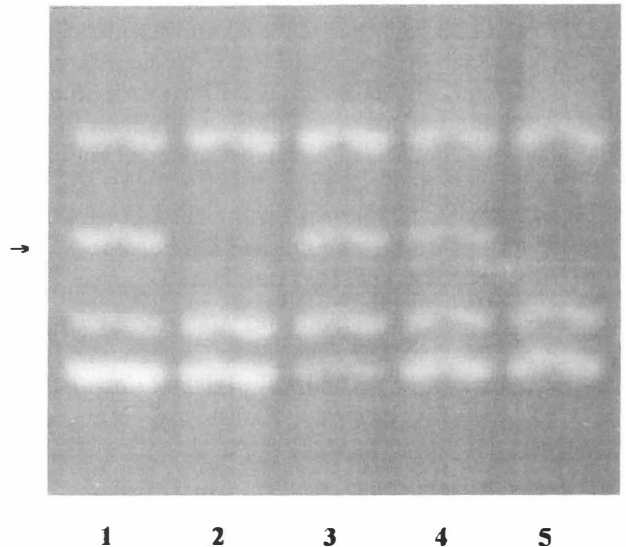


Abb. 1: Auffinden eines RAPD-Markers (Pfeil) für das Resistenzgen *sbm-1* durch Bulk Segregant Analysis mit Primer OPB01 (1- anfälliger Elter, 2- resistenter Elter, 3- F₁, 4- Mischung der DNA aller anfälligen F₂-Pflanzen, 5- Mischung der DNA aller resistenten F₂-Pflanzen)

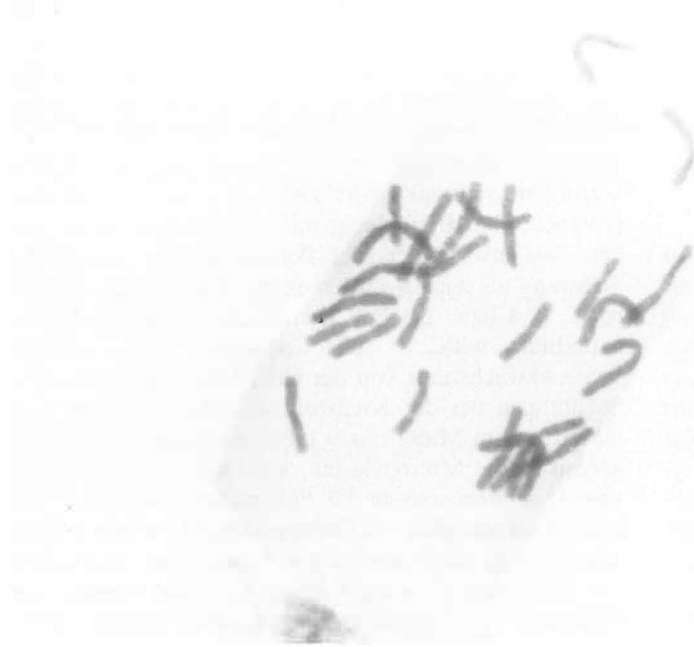


Abb. 1: Chromosomen des Artbastards *Allium cepa* ($n = 8$) x *A. ampeloprasum* ($n = 16$) in der mitotischen Metaphase (erwartete Chromosomenzahl $24 + 1$ überzähliges Chromosom, vermutlich von Porree)

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. (BAZ-1311)

In Zusammenarbeit mit: Ryschka, Schumann, BAZ, Inst. f. Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung, Quedlinburg

178

3. Zytogenetik

3.1. 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 und Anwendung einer Methode zur bildanalytischen Erfassung und Darstellung sehr kleiner Pflanzenchromosomen für die Identifikation und Klassifikation bei der computergestützten Erarbeitung von Karyogrammen

Die methodische Weiterentwicklung der computergestützten Chromosomenanalyse erfolgte in zwei Richtungen. Für einfache Analysen sehr kleiner Chromosomen wurde eine Variante unter Nutzung des Programmiersystems zur digitalen Bildverarbeitung DIAS erarbeitet. Erstmals wurden Chromosomen von *Vitis*-Arten vermessen und aus den Meßdaten ein computergestütztes Karyogramm aufgestellt. Die zweite Richtung beinhaltet

die Weiterentwicklung des Diagnosesystems zur Charakterisierung sehr kleiner Gemüsechromosomen auf der Basis bildanalytischer Methoden hinsichtlich Interaktivität und Einbeziehung neuer zytologischer Präparations- und Färbetechniken. Durch die optimierte Gerätekonfiguration, Forschungsmikroskop mit speziellen TV-Anschluß und objektbezogener Adaptation der Bildgewinnung, ist es möglich, die sehr kleinen Chromosomen von Gemüse, Obst und anderen Kulturen quantitativ zu charakterisieren. Die entwickelte Anwendersoftware gestattet die Erfassung der typischen morphologischen Merkmale. Es konnten erste Chromosomendaten bei *Daucus* ssp., *Brassica* ssp., *Helianthus* ssp., *Malus* ssp. und *Beta* ssp. gewonnen werden. Der Aufbau einer genomspezifischen Merkmals- und Bilddatenbank wurde begonnen. (BAZ-1301)

In Zusammenarbeit mit: Schuster, BAZ, Inst. f. Obstzüchtung, Dresden-Pillnitz; Sobeck, Univ. Hannover
179

3.2. 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 von Objekten im Grenzbereich der Auflösung normaler Lichtmikroskope

Vorjährige erfolgreiche methodische Ansätze zum C-Banding bei *Daucus* wurden hinsichtlich der quantitativen Karyotypanalyse bei *D. carota sativa* fortgeführt. Zur besseren statistischen Vergleichbarkeit gelangen nur

solche Karyotypen in die Auswertung, die eine Genomlänge ($2n=18$) von $70 + 2,5 \mu\text{m}$ im Pro-Metaphase-stadium besaßen, was einer durchschnittlichen Chromosomenlänge von $3,88 \mu\text{m}$ entsprach und damit mehr als das Doppelte der durchschnittlichen Länge normaler Metaphasechromosomen ausmachte. Von bisher 30 ausgewählten idealen Karyotypen entsprachen 16 dieser Anforderung. C-Banden wiesen alle 9 Chromosomenpaare im Zentromerbereich auf, wobei die Mitte jeder Bande als Zentromerpunkt definiert wurde. Nach bildanalytischer Auswertung der normalverteilten Chromosomenlängen des jeweiligen Typs konnte ein vorläufiger Standard-Karyotyp von *D. carota sativa* ermittelt werden, der 5 submetazentrische und 4 metazentrische Chromosomen umfaßt (vergl. Abb.1). Das Sat-Chromosom wurde als das längste submetazentrische Chromosom ermittelt. Karyotypanalytische Untersuchungen an *D. muricatus* ($2n=22$) ergaben, daß im Vergleich zu *D. carota sativa* die beiden zusätzlichen Chromosomenpaare ein langes submetazentrisches und ein relativ kurzes metazentrisches darstellen.

3.3. Versuche zur Entwicklung eines Satzes von Trisomen der Kulturmöhre (*Daucus carota sativa* L.) - Development of a set of trisomes of cultivated carrot (*Daucus carota sativa* L.)

Schrader, O.; Nothnagel, Th.; Ahne, R.; Straka, P.; Budahn, H.; Peterka, H.

Herstellung eines Satzes der neun möglichen unterschiedlichen Trisomen der Kulturmöhre (Sorte 'Lange Rote Stumpfe'). Chromosomenspezifische Lokalisation von Markern und züchterisch wichtigen Merkmalen an zytogenetisch ermittelten kritischen Trisomen

Die Rückkreuzungsnachkommenschaft (BC2) einer triploiden BC1-Pflanze ($2n=3x=27$) gekreuzt mit *Daucus carota sativa* ($2x$) wurde auf ihren chromosomalen Status untersucht. Alle 10 bisher analysierten Genotypen aus einer Gesamtpopulation von 20 Pflanzen waren vollständig auf das diploide Niveau abreguliert. Aneuploide Nachkommen von *D. c. sativa* ($4x$) mit $2n=34$ bzw. $2n=35$ wurden geselbstet, um in der Nachkommenschaft auf weitere aneuploide Genotypen, die sich durch Abre-

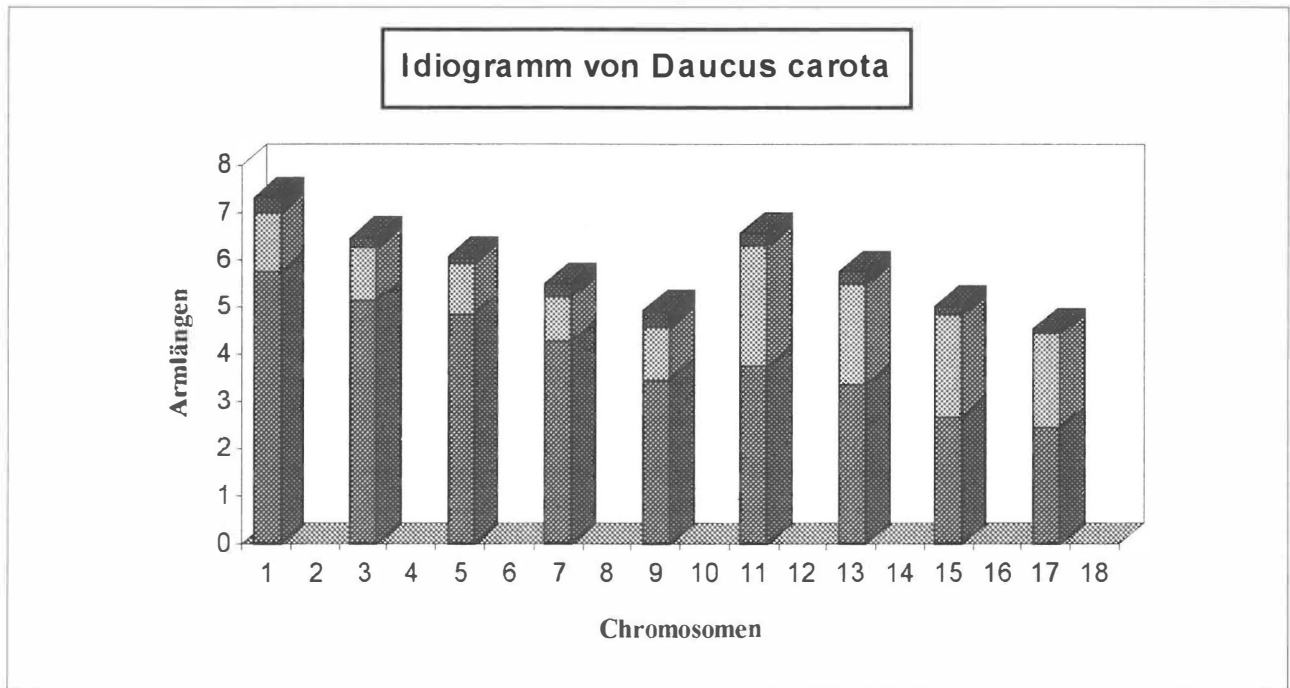


Abb.1: Armlängen, kurzer (dunkel) und langer (heller) Arm, aller neun Chromosomen von *Daucus carota sativa* sowie Streuung (s, grau) der Gesamtlänge jedes Chromosoms bei 16 Metaphasen

Erste Untersuchungen zur Anwendung der beim Getreide entwickelten HKG-Technik (HCl, KOH, Giemsa) zeigten, daß einem Kondensationsmuster entsprechende interkalare Banden bei *D. carota* vorhanden sind.

Durch Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierungen (FISH) einer rDNA-Probe von YAKURA u.a. (1983) mit den Karyotypen von *D. c. sativa* und *D. montevidensis* wurde die NOR-Region der Sat-Chromosomenpaare charakterisiert. Zusätzliche, außerhalb der NOR-Region befindliche rDNA-Sequenzen waren nicht vorhanden. (BAZ-1313)

In Zusammenarbeit mit: Fuchs, Inst. f. Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben

gulation dem $2x$ -Niveau annähern, zu selektieren.

Zur Ploidiestufenbestimmung in aneuploiden Nachkommenschaften fand das Flow-Cytometer als Vorselektionsmethode bei der Ermittlung des $2x$ -, $3x$ - und $4x$ -Niveaus Anwendung. In den Histogrammen zeigten sich auch Übergangsbereiche zwischen den euploiden Niveaus im Vergleich zum diploiden Standard, die als mögliche Aneuploide zur Zeit zytologisch untersucht werden. Ebenso wurde in Artkreuzungen der Kombination *D. c. gummifer* ($2x$) x *D. c. sativa* ($2x$) x *D. c. sat.* ($4x$) x *D. c. sat.* ($2x$) und in derselben Generationsfolge mit *D. c. gadacei* x *D. c. sativa* verfahren. Hierbei ist es das Ziel, Additionen von Wildartchromosomen im

Chromosomensatz der Kulturmöhre zu erhalten. (BAZ-1314)

181

- 3.4. Versuche zur Übertragung einzelner definierter Chromosomen aus Topinambur (*Helianthus tuberosus* L.) in die Sonnenblume (*Helianthus annuus* L.) - Transfer of single defined chromosomes from Jerusalem Artichoke (*Helianthus tuberosus* L.) into sunflower (*Helianthus annuus* L.)**
Schrader, O.

In zwei von der Universität Giessen erhaltenen BC2-Populationen der Kombination *Helianthus annuus* (ms) x *H. tuberosus* x *H. annuus* wurden Chromosomenzahlbestimmungen vorgenommen. Eine Population mit Beteiligung des Topinamburelterns Tub 1705 zeigte an allen 50 BC2-Pflanzen nur die vollständig auf das diploide Niveau abregulierte Chromosomenzahl von $2n=34$. Eine weitere BC2-Population mit Beteiligung des Topinamburelterns Tub 5 wies unter 120 untersuchten Einzelpflanzen 99 abregulierte 34-chromosomige und 21 Pflanzen mit monosomer Addition ($2n=35$) auf. Die Herkunft der addierten Chromosomen geht vermutlich auf das At1- bzw. At2-Genom von *H. tuberosus* zurück. Exakte Beweise dafür sollen die weiteren Arbeiten durch Anwendung banding-, isoenzym- und meioseanalytischer Verfahren in Verbindung mit ersten Resistenztestungen gegen *Sclerotinia sclerotiorum* mit Additions- und Abregulationstypen erbringen. Zur Erhaltung der monosomen Additionen wurde das gesamte Material mit Restorerlinien rückgekreuzt und eine BC3-Nachkommenschaft von 1400 Korn hergestellt. In zwei ausgesäten Stichproben dieser BC3 von je 40 Pflanzen zeigte eine der betrachteten Einzellflanzennachkommenschaften zu 25 % wieder 35-chromosomige Typen.

Methodische Arbeiten zur Adaptierung der HKG-Technik (HCl, KOH, Giemsa) bei *H. annuus* erbrachten für diese Kulturpflanzenart erstmalig klare, sehr distinkte interkalare Bandierungen an 15 der 17 Chromosomenpaaren. 10 Chromosomenpaare zeigten Doppelbanden und 5 Paare Einzelbanden, die zur karyotypanalytischen Differenzierung nutzbar sind.

Durch FISH einer ribosomalen DNA-Probe von YAKURA u.a. (1983) mit dem Karyotyp von *H. annuus* wurden die NOR-Regionen der 3 Sat-Chromosomenpaare charakterisiert. Zusätzliche, außerhalb der NOR-Region befindliche rDNA-Sequenzen waren nicht vorhanden. (BAZ-1317)

In Zusammenarbeit mit: Friedt, Univ. Giessen; Fuchs, Inst. f. Pflanzengenetik und Kulturpflanzenforschung, Gatersleben

182

4. Molekularbiologie / Gentechnik

- 4.1. 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 einkettigen Antikörpern, die gegen sekretierte pektolytische Enzyme des phytopathogenen Bakteriums gerichtet sind

Wegen des weitgehenden Fehlens von Resistenzen gegenüber phytopathogenen Bakterien in den Kulturpflanzen kommt in diesem Bereich der Gentechnik eine besondere Rolle zu. Durch einen gezielten Eingriff in das Wirt-Pathogen-System besteht die Möglichkeit, in transgenen Pflanzen die Interaktion zugunsten der Pflanze zu beeinflussen. Monoklonale Antikörper, die gegen Pathogenitätsfaktoren des Bakteriums gerichtet sind, können als spezifische Inhibitoren angesehen werden. Die Expression sogenannter einkettiger Antikörper, die von den monoklonalen als kleinere Einheiten abgeleitet sind, ist die z.Z. aussichtsreichste Strategie.

Als Modellsystem, das gleichzeitig auch eine große wirtschaftliche Bedeutung hat, wird die Interaktion zwischen Kartoffel und *Erwinia carotovora* bearbeitet. Monoklonale bzw. einkettige Antikörper werden gegen sekretierte pektolytische Enzyme von *E. carotovora atroseptica* hergestellt. Dazu wurden die korrespondierenden klonierten Gene (G.P.C. Salmond, University of Warwick, UK) in geeignete Expressionsvektoren kloniert und in *Escherichia coli* überexprimiert. Die gereinigten Proteine mußten z.T. aus "Einschließungskörpern" renaturiert werden. Diese Enzyme wurden für die Immunisierung von Mäusen und die Herstellung monoklonaler Antikörper verwendet.

Nach detaillierter Charakterisierung der monoklonalen und einkettigen Antikörper werden diese Gene einzeln und in Kombination zur Transformation von Kartoffeln in binäre Vektoren kloniert.

Transgene *Nicotiana benthamiana*-Pflanzen, die einen einkettigen Antikörper, der gegen das Hüllprotein eines Artischocken-Virus gerichtet ist, exprimieren, wurden von E.Benvenuto (ENEA, Rom, Italien) hergestellt und phytopathologisch charakterisiert. Diese Pflanzen stehen für elektronenmikroskopische Untersuchungen der subzellulären Lokalisation der "plantibodies" durch Immunogold-Markierung zur Verfügung, um Erkenntnisse für die transgenen Kartoffelpflanzen zu gewinnen. (BAZ-1318)

In Zusammenarbeit mit: Ehrig, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben; Fischer, Kreuzaler, RWTH Aachen, Institut für Biologie I; Schots, Laboratorium voor monoklonale Antistoffen, Wageningen, Niederlande; Benvenuto, ENEA, Rom, Italien; Depicker, Universiteit Gent, Laboratorium voor Genetica, Belgien; Abad, INRA, Laboratoire de Biologie des Invertèbres, Frankreich; Stiekema, CPRO-DLO, Wageningen, Niederlande

183

4.2. Untersuchungen zur Resistenz von transgenen Kartoffeln gegen Bakterien mit Hilfe von T4 Lysozym - Development of resistance of transgenic potatoes to bacteria using T4 lysozyme
Düring, K.; Porsch, P.

Erzeugung einer gentechnischen Resistenz gegen phytopathogene Bakterien durch Expression und Sekretion von T4 Lysozym als unspezifischer Resistenzansatz

T4 Lysozym wird in Fusion mit einem pflanzlichen Signalpeptid in transgenen Pflanzen in die Interzellularräume 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 Resistenzkonzept wird am Beispiel der Wirt-Pathogen-Interaktion *Solanum tuberosum* - *Erwinia carotovora* untersucht. Durch seinen unspezifischen Charakter eignet sich der gentechnische Ansatz für eine schnelle Übertragung auf andere Wirt-Pathogen-Systeme.

Die Herstellung neuer transgener Pflanzen der Sorte 'Désirée' mit einer minimalen T-DNA konnte bis zur molekularen Charakterisierung der Linien erfolgen. Diese Pflanzen enthalten nur das chimäre Lysozym-Gen unter der Kontrolle des Blumenkohlmosaikvirus-35S-Promotors sowie das NPT II - Marker-Gen (Kanamycin-Resistenz). Gut exprimierende Linien wurden nach Analyse auf Proteinebene (Western Blot) ausgewählt und auf DNA-Ebene charakterisiert. Geeignete Pflanzen wurden ins Gewächshaus überführt, um Material für die weitere Charakterisierung und die Vorbereitung eines Freilandversuches zu erzeugen.

In einer zweiten Phase werden weitere Genkonstrukte erzeugt und getestet. Ziel ist die optimierte Expression des fremden T4 Lysozyms. Wundinduzierbare Promotoren wurden zur Herstellung neuer Transformationskonstrukte ebenso eingesetzt wie solche, die eine verstärkte oder lokal begrenzte Expression erlauben. Promotoren, die nach Infektion mit *E. carotovora* induziert werden, sind bisher nicht beschrieben worden. Geeignete Kandidaten werden auf eine solche Induzierbarkeit hin im Knollenscheibentest geprüft.

Durch elektronenmikroskopische Immunogold-Markierung soll die Sekretion des Fremd-Lysozyms in den transgenen Linien verifiziert werden. Entsprechende Arbeiten laufen. (BAZ-1319)

In Zusammenarbeit mit: Ehrig, BAZ, Inst. f. Resistenzforschung, Aschersleben; Jahnke, Lörz, Univ. Hamburg

184

Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen

Das Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof hat die Aufgabe, die Züchtungsforschung an Reben weiterzuentwickeln und Reben mit hoher Resistenz gegen Schaderreger, hoher Toleranz gegen abiotische Streßfaktoren und hoher Weinqualität herzustellen.

Die Aufgaben des Instituts konzentrieren sich auf

- die Entwicklung von krankheitsresistenten Keltertraubensorten unter Beachtung der Sortenvielfalt des deutschen Weinbaus;
- 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.

1. Resistenzforschung

- 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**
Blaich, R.; Rabsilber, A.; Bachmann, O.

Grauschimmel tötet lebende Pflanzengewebe ab, bevor er sie dann saprophytisch besiedelt. Pflanzenzellen, die gegen das Toxin resistent sind, würden kein Pilzwachstum erlauben.

Ein Testsystem auf der Basis von Zellsuspensionskulturen der Sorte 'Orion' wurde entwickelt, das es erlaubt, toxische Produkte über die verzögerte Chlorophyllfluoreszenz (Lumineszenz) zu testen. Dabei können unspezifische Schädigungen von einer Störung der Photosynthese unterschieden werden. Die Methode funktioniert befriedigend bei vielen Substanzen, z.B. bei manchen Fungiziden. Es zeigte sich u.a., daß Mancozeb und Captan die Photosynthese beeinflussen. Auch Formulierungsbestandteile von Spritzmitteln wirkten auf ungeschützte Zellen toxisch. Die Ergebnisse hierzu wurden in einer Diplomarbeit niedergelegt (RABSILBER 1994).

Die Wirkung der toxischen *Botrytis*-Fraktionen auf die Chlorophyll-Lumineszenz war nicht sehr ausgeprägt, jedoch zeigten Keimpflänzchen aus schnell keimenden Samen (z.B. Tomate) eine sehr empfindliche Reaktion. Mit dieser Methode wurde gezeigt, daß außer den aufgrund früherer Untersuchungen postulierten höhermolekularen toxischen Substanzen auch eine sehr aktive niedermolekulare Toxinfraktion vorhanden ist, die sich mit organischen Lösungsmitteln extrahieren läßt. Aus 6000 ml *Botrytis*-Kulturmedium konnten bisher 60 mg gewonnen werden, die noch in einer Konzentration von 0,2 mg/ml zu einem schnellen Absterben von

Keimpflänzchen und einer deutlichen Fluoreszenzsteigerung im Zellkultursystem führen. (BAZ-5113)
185

- 1.2. Untersuchung der Wirt-Parasit-Interaktion zwischen *Agrobacterium* sp. und *Vitis* sp. - Investigation on the host-pathogen interaction between *Agrobacterium* sp. and *Vitis* sp.**
Ehemann, A.; Zyprian, E.

*Die Beobachtung einer natürlichen, genetisch bedingten Resistenz bestimmter Rebsorten gegen die von *Agrobacterium* sp. verursachte Maukekrankheit gab Anlaß zu einer näheren Untersuchung dieser Interaktion von Wirt und Pathogen. Langfristiges Ziel dieser Arbeiten ist das Verständnis des Resistenzmechanismus zur Beurteilung seiner züchterischen Verwertbarkeit. Die Analyse erfolgt unter Einsatz von cytologischen, cytochemischen und molekularen Methoden.*

Testinfektion an In-vitro-Pflanzen der Rebsorten 'Riesling', 'Vidal', 'Gloire de Montpellier' und 'Kunbarat' mit modifizierten *Agrobacterium*-Stämmen wurden durchgeführt. Diese Stämme tragen zusätzlich zu ihrer natürlichen T-DNA eine artifizielle T-DNA mit einem Indikatorgen für GUS-Int (*uidA*-Gen für β -Glucuronidase, versehen mit pflanzenbürtigem Intron). Der Transfer dieses Gens läßt sich besonders leicht nachweisen. Bei diesen Versuchen erwies sich einzig die Rebsorte 'Kunbarat' als resistent gegen die Tumorinduktion durch *Agrobacterium* sp. Als bakterielle Stämme kamen dabei drei Biovar-I-Stämme (*A. tumefaciens*) und drei Biovar-III-Stämme (*A. vitis*) zum Einsatz. Die letzteren sind durch die Verwertung von Tartrat besonders an die Weinrebe angepaßt. Testindikationen mit Biovar II (*A. tumefaciens*) stehen noch aus.

Bei Infektionen an Nodien und Internodien der Sorte 'Kunbarat' wurde jedoch - trotz fehlender Tumorinduktion - GUS-Aktivität an der Einstichstelle festgestellt.

Daraus läßt sich schließen, daß eine Übertragung der T-DNA und Integration in das Genom von 'Kunbarat' stattgefunden hat. Gegenwärtig wird untersucht, warum die Tumorbildung unterdrückt wird. Ansätze hierzu liegen in der Bestimmung der Kopienzahl der transferierten

T-DNA, der Untersuchungen der T-DNA-Genaktivität nach Transfer in resistente und nichtanfällige Rebsorten, sowie in der Untersuchung der Induzierbarkeit der Virulenzgene (*vir*) von *Agrobacterium*. Zu letzterem wurde versucht ein Indikatorplasmid für T-DNA-Prozessierung, pTMA, in die zu testenden *Agrobacterium*-Stämme einzuführen. Diese Versuche blieben erfolglos. Alternativ bietet sich die Analyse mit Hilfe eines Indikatorplasmids pSM243cd für *vir*-Induktion an. Dieses Plasmid wird derzeit durch Transkonjugation in die *Agrobacterium*-Stämme eingeführt. (BAZ-5127)

In Zusammenarbeit mit: Szegedi, Inst. f. Oenologie und Vitikultur, Kecskemet, Ungarn

186

**1.3. Biochemische Grundlagen der Pilzresistenz:
Charakterisierung der Sorten über Isoenzyme -
Biochemical basis of fungus resistance:
characterization of grapevines by isoenzymes**
Bachmann, O.

Isoenzyme eignen sich zur Identifizierung von Rebsorten und als Marker für züchterisch relevante Eigenschaften, wie hier die Pilzresistenz.

Die Methode zur Isolierung der Isoenzyme aus dem Phloem des ruhenden Holzes wurde verbessert und vereinfacht. An einer großen Zahl (311) von *Vitis*-Arten und -Sorten wurden die Peroxidasen elektrophoretisch getrennt. Diese sind in vielfältiger Weise mit der Pilzabwehr bei Pflanzen verknüpft, z.B. bei Lignifizierung und Hypersensitivität.

Es konnten 33 verschiedene Muster unterschieden werden. *Vitis vinifera*-Sorten haben drei Banden mit isoelektrischen Punkten von 3,5 bis 3,8 gemeinsam. Dieses als A bezeichnete Bandenmuster kommt bei interspezifischen Cultivaren nur halb so häufig vor, während bei den *Vitis*-Arten nur 5% diese Muster haben. Die Banden im neutralen bis basischen Bereich sind zur Unterscheidung und Charakterisierung der Sorten geeignet. Es werden folgende Einschränkungen gemacht: Unterschiedliche Ploidie und Farbspielarten sind ohne Einfluß auf das Bandenmuster. Es ergeben sich Gruppierungen von Rebsorten, wie die Burgunder- und die Riesling-Gruppe, die sich nicht weiter differenzieren lassen. Die qualitativ hochwertigen interspezifischen Neuzuchten gehören alle zum Typ A. Die Peroxidasen bei den verwandten Gattungen *Ampelopsis* und *Parthenocissus* haben mit der Gattung *Vitis* keinerlei Ähnlichkeit. (BAZ-5114)

187

**1.4. Identifizierung von Rebsorten mit morphologischen Merkmalen und molekularen Markern -
Identification of grapevine cultivars with
morphological descriptors and molecular markers**

Dettweiler, E.; Zyprian, E.; Büscher, N.; Tschammer, J.

Die Identifizierung und Unterscheidung von Rebsorten ist für die Erhaltung der genetischen Ressourcen bedeutsam; hierzu dienen morphologische Merkmale und molekulare Marker, die einen hohen Identifikationswert haben.

Zur 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 Erstellung eines Identifikationsschlüssels wird in Zusammenarbeit mit der EDV-Gruppe der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen in Quedlinburg vorgenommen. Das vom Institut eingerichtete Herbarium umfaßt 2950 Exemplare (Blätter, Samen, Triebspitzen, Pollen) von 1274 verschiedenen Rebsorten. In Zweifelsfällen wurde mit dem Einsatz der RAPD-PCR (random amplified polymorphic DNA) zur Klärung der Sortenidentität begonnen.

Im Jahre 1994 wurde die RAPD-PCR-Analyse verwendet, um z.B. die Abstammung der Rebsorte 'Müller-Thurgau' zu überprüfen. Dabei stellte sich heraus, daß es sich nicht wie angenommen um eine Kreuzung von Riesling x Silvaner handelt, sondern ein bisher unbekannter Vater in die Entstehung dieser Rebsorte einging. Im Vergleich wurden andere Rebsorten in ihrer Abstammung bestätigt ('Kerner', 'Diana') (BÜSCHER et al., 1994). Eine Untersuchung zur Verwandtschaft Rieslingartiger Rebsorten (z.T. aus der Schweiz) ergab keine besonders enge genetische Beziehung dieser Sorten untereinander oder zu Riesling (TSCHAMMER und ZYPRIAN, 1994). Versuche zur Differenzierung einer Reihe von Burgundersorten blieben negativ bezüglich der Unterscheidung von Beerenfarbvarianten des Burgunders selbst; einige Burgunder-ähnliche Rebsorten konnten aber eindeutig abgetrennt werden (TSCHAMMER und ZYPRIAN, 1994). Darüber hinaus wurden sechs verbreitete deutsche Rebuterlagssorten auf ihre Differenzierbarkeit überprüft. Die RAPD-Analyse mit 20 Dekamer-Primern an den Unterlagen aus der In-vitro-Kultur ließ eine differentielle Unterscheidung zu (ZYPRIAN unveröffentlicht). 1995 muß die Einsatzfähigkeit dieser Methode an Freilandmaterial noch überprüft werden. (BAZ-5111/5126)

In Zusammenarbeit mit: Forschungsanstalt Geisenheim

188

2. Streßphysiologie

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. Da aus rechtlichen Gründen eine Bewässerung der Reben nur in Ausnahmefällen möglich ist, sollen zur Sicherung der Most- und Weinqualität 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. Der Umfang einer solchen osmotischen Anpassung der Blätter wurde im Jahresablauf bei deutschen und spanischen Sorten ermittelt. Generell kann zwischen jahreszeitlichen und witterungsbedingten Veränderungen des osmotischen Potentials unterschieden werden. So nahmen von Anfang Juni bis Anfang September die Werte von ca. -8 bar auf ca. -14 bar ab. Nach anhaltender Trockenheit lagen die osmotischen Potentiale der deutschen Sorten 'Riesling', 'Silvaner', 'Müller-Thurgau', 'Bacchus', 'Regent', 'Spätburgunder' und 'Gutedel' im Bereich von -11 bis -13,5 bar (Ausnahme: 'Weißburgunder' -15,2 bar). Die entsprechenden Werte der sieben spanischen Sorten lagen dagegen im Bereich von -13,7 bis -16,6 bar, d.h. bei Wassermangel waren die spanischen Sorten durchschnittlich besser an Wassermangel angepaßt als die deutschen Sorten. Dies drückt sich auch in den Werten des Blatt-Turgors aus, der zum gleichen Termin bei den deutschen Sorten im Durchschnitt bei 1,7 bar, bei den spanischen Sorten dagegen bei 5,0 bar lag. Die Untersuchungen bestätigen frühere Befunde, nach denen die Unterlagsorte die Trockenresistenz des Edelreises modifiziert; auch in den vorliegenden Untersuchungen war die Wirkung der Unterlagsorte edelreisspezifisch.

Eine ähnliche Bereitschaft zur Anpassung an Trockenheit konnte auch in verschiedenen Bereichen der Wurzel nachgewiesen werden, so daß die osmotische Anpassung als ein Kriterium der Trockenresistenz zur Unterscheidung von Unterlags- und Edelreissorten wertvolle Hinweise liefert. (BAZ-5108)

In Zusammenarbeit mit: Dry, Waite University, Adelaide, Australien

189

2.2. Untersuchungen zur Früherkennung der Stiel-lähme bei Reben - Studies on early diagnosis of bunch stem necrosis of grapevines

Düring, H.

Neben Schaderregern verursachen auch physiologische Störungen wie die Stiel-lähme Qualitätseinbußen, indem die Stiele reifender Trauben eintrocknen und absterben.

Da seit langem sortentypische Unterschiede in der Anfälligkeit einzelner Sorten bekannt sind, gilt es, bei entsprechenden Sorten die auslösenden Faktoren zu analysieren, um von hier aus eine Früherkennung der Stiel-lähme zu erarbeiten.

Die Auswertung einer fünfjährigen Untersuchung an 17 Rebsorten hinsichtlich ihrer Stiel-lähmeempfindlichkeit führte zur Entwicklung eines Selektionsverfahrens, dem der Ausbildungsgrad des Beerenstielxylems zugrunde liegt (LANG et al., 1994). Zur Beurteilung der Stiel-lähmeempfindlichkeit einer Sorte werden Querschnitte aus verschiedenen Bereichen der Traubenstielachsen ange-färbt; mittels Lichtmikroskopie wird sodann der relative Ausbildungsgrad des Xylems bonitiert. Auf der Basis der zahlreichen vorliegenden Daten kann die Wahrscheinlichkeit berechnet werden, mit der eine Sorte zu den stiel-lähmeempfindlichen bzw. -unempfindlichen Sorten zu zählen ist. (BAZ-5129)

In Zusammenarbeit mit: Lang, Horticulture and Food Research, Palmerston North, Neuseeland
190

2.3. Bestimmung 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 ein- oder mehrjährigen Ertragsausfällen verbunden ist. Zur Ermittlung der Frostresistenz neuer Rebsorten sollen deshalb diagnostische Verfahren entwickelt werden, die eine Beurteilung der Frostresistenz in einem möglichst frühen Stadium der Selektion erlauben.

Die Untersuchungen zur Ermittlung der Abhärtungsbereitschaft von Rebknospen wurden im Winter 1993/94 mit den Sorten 'Riesling' (frostresistent) und 'Silvaner' (frostempfindlich) fortgesetzt, indem zu drei Zeitpunkten Knospen bei verschiedenen Minusgraden unterschiedlich lang abgehärtet wurden. Die Frostresistenz dieser Knospen wurde sodann nach Lagerung bei Temperaturen von -17 bis -29 °C mittels Chlorophyllfluoreszenz ermittelt. Knospen, die -14, -17 bzw. -20 °C ausgesetzt waren und anschließend auf ihre Frostresistenz untersucht wurden, zeigten keine Schäden nach 12stündiger Lagerung, wohl aber nach 24stündiger Lagerung und vor allem nach 48stündiger Lagerung; d.h. bei beiden Sorten nahm die Frostresistenz bei längerer Abhärtung ab, bei 'Silvaner' bereits bei Temperaturen um -20 °C. Bei beiden Sorten wurde an 3 Terminen im Januar deutlich, daß mit steigender Abhärtungsdauer (12, 24, 48 h) die für eine maximale Abhärtung benötigte Temperatur abnimmt. So betrug bei 'Silvaner' die optimale Abhärtungstemperatur bei 12 h Abhärtung -14 °C, bei 24 h -11 °C, bei 48 h -8 °C. Bei 'Riesling' lag die optimale Abhärtungstemperatur bei 12 h Abhärtung bei -11 °C, bei 24 und 48 h dagegen bei -8 °C. Die Versuche zeigen, daß die Abhärtungsbereitschaft der Knospen offenbar in sortenspezifischer Weise von der Temperatur und ihrer Einwirkungsdauer bestimmt wird. Zur Beurteilung der Frostresistenz von

Rebsorten erscheint somit die Einbeziehung dieses Anpassungsvermögens unverzichtbar. (BAZ-5107)
191

3. Methodenforschung

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.; Büscher, N.

Es sollen Marker entwickelt werden, die mit züchterisch bedeutsamen Eigenschaften, wie z.B. der Pilzresistenz, korrelieren, um sie in der Marker-gestützten Selektion als frühes Indiz einsetzen zu können. Damit soll die Möglichkeit geschaffen werden, den bei Weinreben sehr langwierigen Selektionsvorgang möglichst verkürzen zu können.

Bezüglich molekularer Marker für Pilzresistenz wurde eine Untersuchung von etwa 50 resistenten und anfälligen Rebsorten vorgenommen. Dabei wurde ein Marker gefunden, der konsistent bei Sorten auftrat, die auf eine Kombination von Qualität und Resistenz selektiert wurden, und der bei reinen *Vitis vinifera*-Sorten entsprechend stets fehlt. Dieser Marker wurde kloniert und sequenziert. Er trägt das Potential zur Codierung eines Proteins, dessen Funktion unbekannt ist. Bei Anwendung dieses Markers auf eine F₁-Population einer R x S-Kreuzung zeigt er eine Aufspaltung von 1:1. Bislang konnte er noch nicht mit bestimmten Einzelmerkmalen (wie Resistenz) korreliert werden; er scheint ganz allgemein züchterisch vorteilhafte Merkmalskombinationen zu kennzeichnen.

Aus der Sequenz abgeleitete spezifische, längere Primer erlauben die spezifische Amplifikation nur dieses Genorts. Eine Untersuchung an bisher 12 Wildarten der Weinrebe zeigt zwar das Vorhandensein oder Nicht-Vorhandensein des Markers, ein Längenpolymorphismus (eine kürzere Variante des Amplifikationsprodukts) wurde jedoch nur bei *Vitis rotundifolia* gefunden. Diese Wildart besitzt zwei Chromosomen mehr (2n = 40) als die Mitglieder der Gattung *Vitis* (2n = 38) und wird daher in manchen Untersuchungen als *Muscadinia* in eine eigene Gruppe oder Gattung abgetrennt. Der oben genannte Befund bestätigt die Berechtigung einer solchen Abtrennung.

Des weiteren wurde von neun Sämlingspopulationen à 45 Pflanzen aus anderen R x S-Kreuzungen DNA präpariert, so daß diese zur Suche nach molekularen Markern für Pilzresistenz zur Verfügung stehen. Um die Suche effizienter zu gestalten, werden die genomischen DNAs von resistenten und anfälligen in Zukunft in "pools" vereint untersucht. (BAZ-5115)

192

3.2. Erzeugung von haploiden Reben aus Antheren - Production of haploid grapevines from anthers

Harst, M.

Durch die Gewinnung haploider Pflanzen bei der ausgeprägt heterozygoten Rebe könnte homozygotes Pflanzgut zur Verfügung gestellt werden, was eine Verbesserung des Züchtungsverlaufs und eine Erleichterung der Genanalyse darstellen würde.

Die in den Jahren 1992 und 1993 erarbeitete Methode zur Regeneration von Rebantheren der Genotypen 'Riesling' und 'Rupestris du Lot' über den Weg der somatischen Embryogenese erbrachte eine Rate von embryogen reagierenden Explantaten von 4 bis 6 % nach 20 Wochen ab Inokulation der Antheren auf das Induktionsmedium. Im Zeitraum der Berichterstattung konnte nun durch strenge Selektion bei der Präparation der Antheren (nur intakte, weißlich-transparente Antheren, keine Filamentreste) die Regenerationsrate auf 32 % bei 'Riesling' und auf 16 % bei 'Rupestris du Lot' erhöht werden. Zudem konnten nun auch 'Cabernet Sauvignon' (4 %) und 'Sirius' (5 %) zur somatischen Embryogenese angeregt werden. Die Resultate wurden aus 1500 aufgelegten Antheren ermittelt.

Da von den bislang differenzierten Pflanzen durch cytologische Untersuchungen kein Nachweis einer durch diese Methode regenerierten haploiden Pflanze erbracht werden konnte, zielt die weitere Forschungsarbeit zur Gewinnung haploider Reben auf die Entwicklung einer Methode zur Mikrosporenkultur. Erste methodische Ansätze zur Isolierung wurden eingeleitet. (BAZ-5116)

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

193

3.3. Regeneration von Blattscheibenexplantaten der Rebe - Regeneration of leaf-disc explants of the grapevine

Harst, M.

*Entwicklung eines leistungsfähigen Regenerationssystems zur Lösung von Regenerationsproblemen aus undifferenziertem Gewebe oder Einzelzellen (resp. Protoplasten) sowie zur Anwendung als Frühselektionssystem und Transformationsuntersuchungen mit *Agrobacterium tumefaciens**

Die 1993 etablierte Methode der Regeneration von Reben der interspezifischen Sorte 'Seyval blanc' über Blattscheiben-Systeme basiert auf der Verwendung von In-vitro-Pflanzen als Ausgangsmaterial zur Entnahme der Explantate. Dieses Pflanzenmaterial hatte sich im Hinblick auf eine möglichst hohe Standardisierung des Systems als sehr geeignet herausgestellt. Es wurde überprüft, ob es Unterschiede in der Regenerationskompetenz von unterschiedlich lang in vitro etablierten Pflanzen gibt. Hierfür wurden Pflanzen verwendet, die seit 18 (= 3 Subkulturen), 30 (= 6 Subkulturen) und 42 Monaten (= 9 Subkulturen) in vitro kultiviert wurden. Es zeigte sich, daß bei allen drei Varianten keine statistisch zu sichernden Unterschiede in der Rate induzierter somatischer Embryonen auftraten: 14 Wochen nach Versuchsansatz

wurden 90, 97 und 92 % embryogen reagierende Blattscheiben ausgewertet.

Des weiteren wurde untersucht, ob die aus früheren Versuchsansätzen aus somatischen Embryonen differenzierter Pflanzen wieder für Regenerationsversuche eingesetzt werden können. Diese wurden mit aus normalen Stecklingskulturen stammenden In-vitro-Pflanzen verglichen. In drei Versuchsansätzen konnte eine geringfügig reduzierte Regenerationsrate von 64 % bei Blattscheiben von Pflanzen aus somatischen Embryonen im Vergleich zu 73 % bei Explantaten aus Stecklingskulturen nach 12 Kultivierungswochen gemittelt werden.

Das Blattscheiben-System wurde bei zwei weiteren Genotypen, der interspezifischen Sorte 'Chancellor' und der Wildrebe *Vitis thunbergii*, getestet. Da die Untersuchungen noch nicht abgeschlossen sind, kann ein Zwischenergebnis der 9. Woche nach Versuchsansatz derzeit belegen, daß im allgemeinen eine Regeneration gemäß dem etablierten Regenerationsprotokoll erfolgreich ist, die Regenerationsrate bisher im Vergleich mit der Kontrollsorte 'Seyval blanc' mit 70 % reagierenden Blattscheiben bei 'Chancellor' bei 19 % und bei *Vitis thunbergii* bei 29 % liegen. An 'Rupestris du Lot' wurde das System ebenfalls getestet, jedoch keine Regeneration beobachtet. Wurden Blattscheiben von 'Seyval blanc' jedoch zusammen mit Blattscheiben von 'Rupestris du Lot' kultiviert, konnten bei dieser Cokultivierung an 3 % der 'Rupestris'-Blattscheiben nach 30 Wochen somatische Embryonen induziert werden.

Das erarbeitete Regenerationsprotokoll konnte erfolgreich auf die Regeneration von Rebprotoplasten übertragen werden. (BAZ-5117)

In Zusammenarbeit mit: Alleweldt, Reustle, Lehrstuhl für Weinbau, Univ. Hohenheim

194

3.4. Entwicklung von Verfahren zur zytogenetischen Charakterisierung von *Vitis* und anderen *Vitaceae* - Development of methods for cytogenetic characterization in the genus *Vitis* and other *Vitaceae*

Alleweldt, G.; Haas, H.U.

Durchführung und Neuerarbeitung 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.

Aufbauend auf den Ergebnissen des Jahres 1993 wurden im Berichtszeitraum die Methoden der Vorbehandlung und Präparation der Wurzelspitzen verbessert und somit die Chromosomen auch im Phasenkontrast mikroskopierbar und für die nachfolgende computergestützte Bildverarbeitung nutzbar. Wegen der kleinen Chromosomen wurde erstmals eine neue Computersoftware zur Bildverbesserung erprobt (vgl. Projekt BAZ-1301) und die nachfolgend erhaltenen Daten mittels Tabellenkalkulation verdichtet und ausgewertet. Dabei zeigte sich, daß eine Differenzierung der Chromosomenpaare mög-

licherweise nur bis zu einem bestimmten Kontraktionsgrad möglich ist. Weitere Untersuchungen hierzu sind nötig. Die beiden Satellitenchromosomen konnten in den Metaphasen von 'Bacchus' mittels Silberfärbung (Ag-Bandierung) sichtbar gemacht werden. Des weiteren konnten erstmals mittels Fluoreszenz-in-situ-Hybridisierung (FISH) DNA-Bereiche von Rebchromosomen markiert und die Chromosomen charakterisiert werden. Mit der Markierung mittels rDNA-Sonde (pTA 71) steht somit neben der Silberfärbung eine weitere Methode zur Bestimmung der Satellitenchromosomen zur Verfügung. (BAZ-5130)

195

4. Qualitätsforschung

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 Säureabbaus.

Bei der Mehrzahl der 9 interspezifischen Neuzüchtungen und 6 Kontrollsorten der Art *Vitis vinifera* lag 1994 der Blühtermin zwischen dem 17. und 20. Juni, nur bei den Sorten 'Gf. Ga-47-42' und 'Gf. 67-198-2' wurde die Vollblüte bereits am 13. Juni beobachtet. Der Blühtermin lag damit bei den meisten Sorten 12 Tage später als 1993. Die Dauer der Phase "Blüte bis Beerenreifebeginn" betrug 48 bis 67 Tage (1993: 49 bis 66 Tage), wobei die Sorten 'Riesling', 'Silvaner' und 'Gf. Ga-52-42' mit 66 bzw. 67 Tagen im oberen Bereich, die Sorten 'Bacchus', 'Phoenix' und 'Regent' mit 48 bzw. 50 Tagen im unteren Bereich lagen. Mit 28 bis 52 Tagen war die Geschwindigkeit der Zuckereinlagerung der einzelnen Sorten breit gefächert, die Werte lagen deutlich über denen von 1993 (17 bis 35 Tage). Auch der Säureabbau zeigte eine starke Sortendifferenzierung: Für einen Säureabbau von 20 % (gerechnet ab Säuremaximum) benötigten die Sorten 'Staufer', 'Phoenix' und 'Orion' nur 14 bzw. 17 Tage, während die Mehrzahl der Sorten 20 bis 29 Tage brauchte (Ausnahme: 'Riesling' 41 Tage). (BAZ-5109)

196

4.2. Untersuchungen über die Aromastoffe des Mostes und des 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 analyti-

schen Bestimmung von Weinqualität und Sortencharakter

Durch Anwendung der Korrelations- und Regressionsanalyse können aus der Vielzahl der nach Anreicherung gaschromatographisch aufgetrennten Aromakomponenten des Weines einige wenige ausgewählt werden, mit denen eine hochsignifikante analytische Trennung zwischen den einzelnen Rebsorten möglich ist. Mit Hilfe der Diskriminanzanalyse können mit nur 15 solcher Komponenten 'Riesling' und die von 'Riesling' abstammenden Neuzüchtungen (wie z.B. 'Bacchus', 'Kerner', 'Scheurebe', 'Optima') eindeutig voneinander getrennt werden. Zur analytischen Trennung der neutralen Rebsorten ('Silvaner', 'Ruländer', 'Weißburgunder') sind 23 Aromakomponenten erforderlich. Bei diesen sortencharakteristischen Aromakomponenten handelt es sich vorwiegend um Monoterpenkomponenten.

Neben den bisher bekannten Monoterpenkomponenten gelang es, neue, bisher nicht bekannte aromarelevante Komponenten zu identifizieren (u.a. trans-Geraniumsäuremethylester, Farnesylmethylester, α -Farnesen). Diese Komponenten, die vorwiegend in den Beerenhäuten vorkommen, sind insbesondere für die Charakterisierung innerhalb der Rebsorten mit muskatähnlichem Aroma von hoher Bedeutung. Während Geraniol sowohl in Muskatsorten als auch in Traminer mit etwa gleichem Gehalt vorliegt, sind bei Traminer die Gehalte von trans-Geraniumsäuremethylester 10fach, α -Farnesen 6fach und Farnesylmethylester bis 50fach höher als bei Muskatsorten. Letztere hingegen enthalten bis zu 10fach höhere Linaloolgehalte als Traminer.

Zur Klärung der Frage, inwieweit Weine von pilzresi-

stenten Rebsorten höhere Methanolgehalte enthalten als *Vinifera*-Sorten, wurde von mehr als 150 Weinen (Jahrgang 1993; angebaut in Versuchskellerei) der Methanolgehalt gaschromatographisch bestimmt. Die Verrechnung der Ergebnisse (Abb. 1) zeigt eindeutig, daß im Methanolgehalt zwischen den pilzresistenten Rebsorten und *Vinifera*-Sorten keinerlei Unterschiede bestehen: die Methanolwerte der Weißweine schwanken zwischen 20 und 105 mg/l und liegen deutlich unter den Werten, die bei Rotweinen vorliegen. (BAZ-5123)
In Zusammenarbeit mit: Niebergall, Univ. Karlsruhe
197

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 unerwünschte Aromastoffe (Medizin-/Arzneinote; bitter-metallisch) in Wein verursachen im Hinblick auf eine analytische Frühdiagnose zur Selektion von Neuzüchtungen ohne negative Aromastoffe.

Einige der im Wein identifizierten flüchtigen Phenolverbindungen können ab bestimmten Gehalten (Geruchsschwellenwert) im Wein unerwünschte Aromastoffe (wie z.B. phenolisch, rauchig, medizinisch, holzig) hervorrufen. Untersuchungen von zahlreichen Weinen (*Vitis vinifera* und pilzresistente Neuzüchtungen) ergaben, daß z.B. die Werte von 4-Vinylguajacol zwischen 5

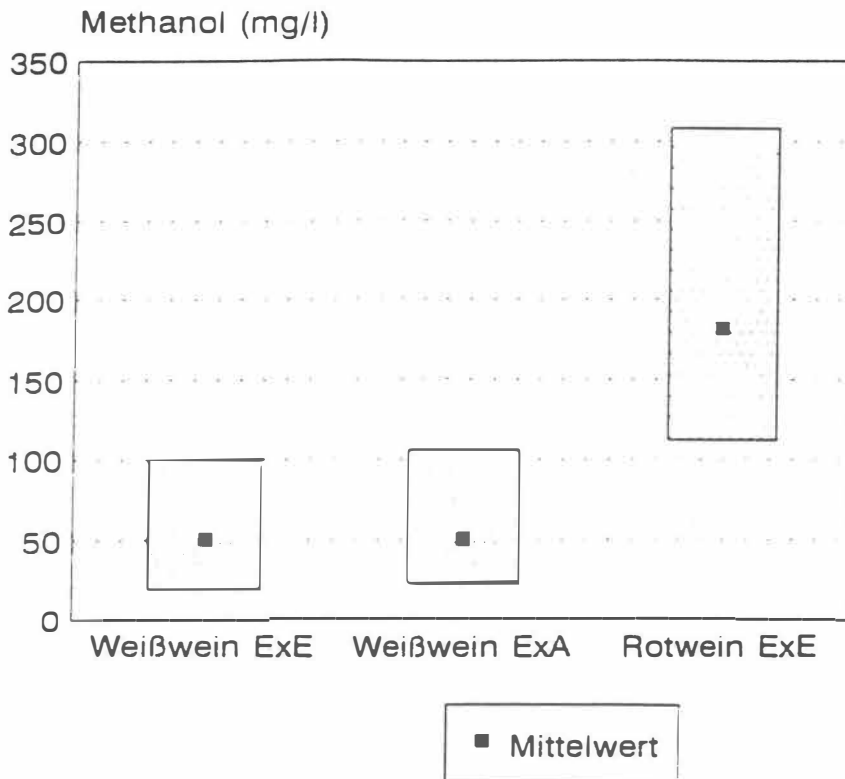


Abb. 1: Methanolgehalte in Weinen pilzresistenter Rebsorten (ExA) und *Vitis vinifera*-Rebsorten (ExE)

bis 1000 µg/l und die von 4-Ethylphenol zwischen 0,4 und 500 µg/l schwanken. Insbesondere 4-Ethylphenol kann bei Konzentrationen über 200 µg/l eine deutlich phenolisch- (holzige) medizinische Aromanote hervorrufen. Publikationen, wonach Weine von Hybriden (u.a. 'Isabelle', 'Noah') grundsätzlich höhere Gehalte an 4-Vinylguajacol, 4-Vinylphenol und 4-Ethylphenol enthalten sollen, konnten unsere Untersuchungen nicht bestätigen. Wir fanden für Vinylguajacol und Vinylphenol eindeutig höhere Gehalte bei *V. vinifera*-Weinen als bei unseren pilzresistenten Neuzüchtungen aus der Abstammung 'Villard blanc' x 'Bacchus' ('Optima'). Die Gehalte von Vinylguajacol und Vinylphenol sind sortenabhängig, nehmen aber zusätzlich deutlich mit zunehmender Maischestandzeit und Enzymaktivität zu. Die Werte von 4-Ethylphenol können durch mikrobielle Aktivität (z.B. *Brettanomyces*-Hefen) beim Weinausbau durch Bildung aus vorhandenen 4-Vinylphenol deutlich ansteigen. (BAZ-5122)

198

4.4. Entwicklung einer Schnellmethode zur Bestimmung des Erdbeertones in Weinbeeren und Wein - Development of a screening method for the determination of the strawberry flavour in grape and wine

Rapp, A.

Analytische Bestimmung von Furaneol zur einwandfreien Frühdiagnose neuer Rebsorten, die frei sind von der unerwünschten Aromanote

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. Hierbei wird nach einer Auftrennung des Extraktes auf einer polaren Kapillarsäule der Bereich mit der zu untersuchenden Komponente on-line auf eine zweite Trennsäule überführt. Durch Verwendung von apolaren Kapillarsäulen kann im zweiten Trennungsschritt eine vollkommene Abtrennung des Furaneols von den übrigen Komponenten erreicht werden, wodurch eine sichere und empfindliche Bestimmung möglich ist (Nachweisgrenze 1 ppb). Da die Geschmacksschwelle zur Erkennung des Erdbeertones, je nach Restsüße des Weines, bei 70 bis 300 ppb Furaneol liegt, ist die analytische Qualitätsbeurteilung (Nachweisgrenze 1 ppb) zur Selektion neuer Rebsorten wesentlich empfindlicher und präziser.

In den Jahren 1993 und 1994 wurde mit dieser Methode von mehr als 200 pilzresistenten Zuchtstämmen der Furaneolgehalt untersucht. Dabei zeigt sich, daß aus einigen Kreuzungstypen stets brauchbare Zuchtstämme erreicht werden (z.B. 'Sirius' x 'Huxel', 'Sirius' x 'Ortega', 'Staufer' x 'Gf. 67-198-2', 'Gf. Ga-52-42' x 'Huxel'), während bei der Einkreuzung von 'S.V. 1-72', 'Plantet' oder 'Vidal blanc' mit 'Sirius' oder 'Staufer' Zuchtstämme mit z.T. sehr hohen Furaneolgehalten (bis 640 ppb!) und somit auch Weine mit einer deutlichen Erdbeernote erhalten werden. (BAZ-5119)

199

4.5. Untersuchungen zur Bestimmung von Inhaltsstoffen von Weinbeeren und Wein mit Hilfe der ¹³C-NMR-Spektroskopie - Investigations for the determination of must and wine compounds with ¹³C-NMR-spectroscopy

Rapp, A.

Überprüfung der Möglichkeit zur einfachen, schnellen und strukturspezifischen quantitativen Bestimmung von Inhaltsstoffen der Weinbeere und des Weines mit der NMR-Spektroskopie im Hinblick auf eine Vereinfachung der Analysenmethoden zur Frühdiagnose neuer Rebsorten

Mit Hilfe der ¹³C-NMR-Spektroskopie können zahlreiche Inhaltsstoffe des Weines und von Fruchtsäften ohne aufwendige Trennungsvorgänge nebeneinander in einem einzigen Analysenschritt strukturspezifisch und quantitativ bestimmt werden. Derzeit können mit dieser Methode die verschiedenen Zucker (Monosaccharide, Disaccharide, Oligosaccharide), Zuckeralkohole, Zuckersäure, Aminosäuren, Mono-, Dicarbonsäure sowie organische Konservierungsstoffe aus Wein und Traubenmost quantitativ ermittelt werden. Durch Zugabe einer definierten Menge eines internen Standards (1,3-Propandiol) können die Gehalte aller Komponenten ohne Erstellung von aufwendigen Eichwerten mit der von uns ausgearbeiteten Berechnungsformel quantitativ bestimmt werden:

$$C_K = \frac{\Sigma I_K}{\Sigma I_{St}} \times C_{St} \times \frac{CF_{St}}{CF_K}$$

C_K = Konzentration der zu messenden Komponenten

C_{St} = Konzentrat des zugesetzten Standards (1,3-Propandiol)

ΣI_K = Summe der ¹³C-Intensitäten der zu messenden Komponenten

ΣI_{St} = Summe der ¹³C-Intensitäten des Standards

CF_{St} = Kohlenstoff-Faktor des Standards (für 1,3-Propandiol) = 2,11

CF_K = Kohlenstoff-Faktor der zu messenden Komponente =

$\frac{\text{Molekulargewicht der Komponenten}}{\text{Anzahl der C-Atome im Molekül} \times 12}$

Die neu entwickelte Analysenmethode ist geeignet, um aus einem komplexen Stoffgemisch (Wein, Fruchtsaft, Gemüse) Einzelkomponenten schnell und sicher quantitativ zu bestimmen, ohne vorherige Auftrennung der Komponenten. Diese Methode wird in Zukunft die Ana-

lytik komplexer Stoffgemische wesentlich erleichtern. (BAZ-5121)

In Zusammenarbeit mit: Niebergall, Univ. Karlsruhe
200

4.6. Rotweinfarbstoffe: Der Anthocyangehalt - Anthocyanins of red wine: the content Steffan, H.

Die Arbeiten zielen darauf hin, für die Züchtung farbstoffreicher Rotweinsorten eine Frühdiagnose zur Erkennung der Farbqualität zu entwickeln und den Anthocyangehalt zu analysieren.

Für die Untersuchung, ob es sich bei einer Rotweinsorte um eine Europäerrebe bzw. Europäerkreuzung oder um einen Direktträger handelt, wird immer noch das Vorhandensein von Malvin (Malvidin-3,5-diglucosid) als analytisches Merkmal herangezogen. In Europäerreben ist Malvin mit der gängigen Nachweismethode noch nicht nachgewiesen worden. Im Laufe unserer Untersuchungen haben wir bei Kreuzungspopulationen aus Direktträgern eine Reihe von Neuzüchtungen gefunden, in denen ebenfalls kein Malvin nachgewiesen werden konnte, so daß diese im Anthocyanmuster den Euroäern ähneln. Es stellt sich die Frage, ob diese Sorten sowie auch Europäerreben an sich kein Malvin haben oder ob es unter der bisherigen Nachweisgrenze liegt.

Zu diesem Zweck wurden von den Sorten 'Portugieser' (Standard) und 'Dornfelder' (Europäerkreuzung) 2 bis 4 kg Trauben aufgearbeitet, der Anthocyanextrakt auf Ionenaustauschersäulen (Amberlite CG-5/I) gereinigt und aufkonzentriert und anschließend eine quantitative Auftrennung der Anthocyane auf Lichroprep RP 18-Säulen (20x2 cm) versucht mit dem Ziel, eventuell vorhandenes Malvin abzutrennen und zu konzentrieren, um so unter die bisherige Nachweisgrenze zu gelangen. (BAZ-5125)

201

4.7. Phenolgehalt und SO₂-Bedarf - Content of phenolic compounds and SO₂-satisfaction Rapp, A.

Entwicklung einer Methode zur Selektion von Neuzüchtungen mit geringem SO₂-Bedarf

Neben den Carbonylverbindungen, deren Gehalte vom Gesundheitszustand der Weinbeeren und dem Gärverlauf/Gärstadium abhängen, gibt es weitere von der Rebsorte geprägte SO₂-bindende bzw. SO₂-verbrauchende Komponenten. Zur Ermittlung dieses sortentypischen SO₂-Bedarfs (Bindung von freiem SO₂ und Verlust an gesamtem SO₂) wurden die Messungen in frisch gepreßten Mosten von gesunden Weinbeeren durchgeführt.

Beim Vergleich verschiedener Rebsorten zeigen sich deutliche Unterschiede im Gehalt der Reduktone (z.B. 'Orion' > 'Pollux' und 'Riesling' > 'Gf. Ga-54-42') und dem Phenolgehalt. Bei allen untersuchten Rebsorten nimmt bei Verminderung des Phenolgehaltes (durch Zusatz von Polyvinylpyrrolidon) der Gehalt der Reduktone ab. Dies zeigt deutlich den Zusammenhang

zwischen dem sortencharakteristischen SO₂-Bedarf und dem Phenolgehalt. Die Identifizierung der phenolischen Schlüsselkomponenten, aus deren Analytik eine Methode zur Bestimmung des SO₂-Bedarfs abgeleitet werden kann, ist noch nicht gelungen. (BAZ-5118)

202

4.8. Entwicklung einer Methode zur Bestimmung der charakteristischen Aromakomponenten von Äpfeln - Development of a method for the determination of the characteristic aroma compounds in apple

Rapp, A.

Ermittlung und quantitative Bestimmung sortencharakteristischer Aromastoffe zur einwandfreien analytischen Frühdiagnose im Rahmen der Züchtung neuer pilzresistenter Apfelsorten

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. Als Ausgangsmaterial kann aus frischen Äpfeln hergestellter Apfelsaft, oder zur Ausschaltung von Enzymreaktionen ein unter Zusatz von Kochsalz hergestelltes Apfelhomogenat, eingesetzt werden. Nach Anreicherung mit der von uns angewandten Flüssig-Flüssigextraktion mit Freon 11 und der gaschromatographischen Auftrennung auf unseren Standardkapillarsäulen (DB-Wax, DB-5) zeigen die Aromagramme aus Extrakten von Apfelsorten mit unterschiedlicher Geschmacksausprägung deutliche Unterschiede im Aromaprofil.

Die erarbeitete Methode ist nun auf ihre Eignung zur Selektion auf Produktqualität neuer pilzresistenter Apfelsorten zu überprüfen.

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

203

5. Züchtung

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

Alleweldt, G.; Eibach, R.

Verminderung des Pflanzenschutzmittelaufwandes; Senkung der Produktionskosten; Steigerung der Qualitäts- und Ertragsicherheit und Förderung eines umweltschonenden Weinbaues

1994 wurden aus 74 durchgeführten Kreuzungskombinationen ca. 51000 Samen geerntet. Aus den Kreuzungen der Vorjahre wurden ca. 3000 Sämlinge auf dem Geilweilerhof und ca. 4000 Sämlinge in Erlasee ausgepflanzt. Für populationsgenetische Untersuchungen wurde ein Teil der aus den Kreuzungen hervorgegangenen Sämlinge einem starken Befallsdruck von *Plasmopara* bzw.

Oidium ausgesetzt. Die Ergebnisse geben wertvolle Hinweise zur Vererbung der Resistenzeigenschaften bei den eingesetzten Kreuzungseltern. So zeigte sich beispielsweise, daß die Neuzüchtung 'Phoenix' die *Plasmopara*-Resistenz gut vererbt, während die Neuzüchtung 'Regent' die *Oidium*-Resistenz (Blatt) gut an ihre Nachkommenchaften überträgt. Von den 55 im Jahr 1993 aus unbehandelten Sämlingsquartieren ausgelesenen Zuchtstämmen wurden unter Berücksichtigung der Weinqualität und weiterer wertbestimmender Eigenschaften 38 Zuchtstämme in die Vorprüfung übernommen. Aus behandelten Sämlingsanlagen wurden weitere 8 Zuchtstämme ausgelesen und gemäß ihrem anhand von In-vitro-Tests ermittelten Resistenzgrad in die entsprechenden Zuchtquartiere aufgepflanzt.

1994 wurden insgesamt 63 Anbaueignungsversuche mit pilzresistenten Neuzüchten erstellt. Dabei lag der Schwerpunkt wiederum eindeutig auf der Rotweinneuzüchtung 'Regent', wovon 50 Versuchsanlagen erstellt wurden. Für die Neuzüchtungen 'Staufer', 'Orion' und 'Regent' wurde der Sortenschutz erteilt. Ferner erfolgte für die Sorten 'Staufer' und 'Orion' die Eintragung in die Sortenliste des Bundessortenamtes. Zur Erteilung des Sortenschutzes wurden die beiden Zuchtsorten 'Gf.Ga-52-42' und 'Gf.Ga-48-12' neu beim Bundessortenamt angemeldet.

Die außerordentlich positiven Ergebnisse der Anbaueignungsprüfung von 'Regent' in der Schweiz führten in der Praxis zu einem starken Interesse für diese Sorte. Aus diesem Grund wurde der Sortenschutz für 'Regent' in der Schweiz beantragt. (BAZ-5101)

204

5.2. Die Erhaltungszüchtung neuer Rebsorten - Maintenance breeding of vine varieties

Eibach, R.

Prüfung verklonter Rebenneuzüchten auf Gesundheit und Erhaltung der Leistungsfähigkeit

Die Prüfung von insgesamt 24 A-Klonen pilzresistenter Neuzüchtungen wurde fortgesetzt. Ausgewählte Einzelstöcke, die sich in den entsprechenden Testverfahren als frei von Virus- und Bakterienkrankheiten erwiesen, werden parallel in vitro kultiviert, so daß eine Reinfektion ausgeschlossen ist. Damit ist eine im Bedarfsfall rasche Vermehrung gesunden Pflanzgutes ermöglicht.

Von den bereits in die Sortenliste des Bundessortenamtes eingetragenen pilzresistenten Neuzüchtungen 'Phoenix' und 'Orion' wurden zur Deckung des Pflanzgutbedarfes sieben Rebanlagen von 'Phoenix' und drei Rebanlagen von 'Orion' gemäß der Rebpflanzgutverordnung für die Produktion von Basispflanzgut angemeldet und anerkannt. Im Vorgriff auf die zu erwartende Eintragung in die Sortenliste von 'Regent' wurden acht Anlagen ebenfalls zur Produktion von Basispflanzgut angemeldet und anerkannt. Die erhaltungszüchterische Betreuung ausgewählter Versuchsanlagen weiterer beim Bundessortenamt gemeldeten Neuzüchten wurde, begleitet durch phyto-sanitäre Kontrollen, fortgesetzt. (BAZ-5102)

205

6. Genetische Ressourcen

6.1. Die Erhaltung der genetischen Ressourcen der Rebe - Maintenance of genetic resources of grapevines

Eibach, R.; Dettweiler, E.; Harst, M.

Erfassung und Beschreibung der genetischen Ressourcen der Rebe, Nutzbarmachung für züchterische Zwecke

Die Datenbank der Rebe umfasst 15916 verschiedene Rebarten und -sorten, die mit den IPGRI-Passport-Daten versehen sind. Ihre Aktualisierung wurde weitergeführt. Die Ergänzung und Erweiterung der Sammlung genetischer Ressourcen wurde fortgesetzt. Die Rebsortensammlung wurde um insgesamt 163 Genotypen erweitert und umfaßt derzeit 2518 Genotypen (982 *Vitis vinifera*-Sorten, 1410 Sorten aus interspezifischen Kreuzungen, 126 Genotypen von 32 verschiedenen *Vitis*-Arten).

Zwischenzeitlich wurden 2068 Genotypen serologisch auf Viren der Reisigkrankheit und der Blattrollkrankheit getestet. Ein positives Testergebnis lag in 271 Fällen vor, wobei die Blattrollkrankheit am häufigsten festgestellt wurde. Bei 49 der positiv getesteten Genotypen, die gemäß der Datenbank der Rebe ausschließlich in der Rebsortensammlung des IRZ vorhanden sind, wurde über die Thermoerapie in vitro die phytosanitäre Sanierung 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, 10µEm⁻² s⁻¹) mit 16 Exemplaren je Genotyp kultiviert.

Die Untersuchungen zu den Langzeitlagerungsbedingungen von Rebsamen laufen weiter. Mit der Einlagerung der Samen von Wildarten (4 bis 6% Samenfeuchte und -21°C Lagerungstemperatur) wurde begonnen. (BAZ-5106)

206

6.2. Evaluierung der genetischen Ressourcen der Rebe - Evaluation of the genetic resources of grapevines

Eibach, R.; Dettweiler, E.

Erfassung züchterisch wichtiger Werteigenschaften bei Rebarten und -sorten

Mit der Evaluierung züchterisch wichtiger Eigenschaften durch Literaturrecherche wurde begonnen und die ersten Ergebnisse zur Resistenz von Sorten gegenüber Pilzkrankheiten zusammengestellt und veröffentlicht.

In der Rebsortensammlung des IRZ wurden die Untersuchungen zur Ermittlung der Mehlauresistenz fortgesetzt. Für eine große Anzahl von Genotypen liegen zwischenzeitlich mehrjährige Erhebungsdaten sowohl für *Plasmopara* als auch für *Oidium* vor. Von insgesamt 1082 interspezifischen Sorten bzw. Zuchtstämmen liegen mindestens 2jährige Freilandhebungen bezüglich des *Plasmopara*-Befalles am Blatt vor. Hiervon wiesen 32 Sorten (3%) in allen Beobachtungsjahren keinen Befall auf. Ein sehr starker Blattbefall wurde dagegen bei 94 Sorten ermittelt. Die Ergebnisse ermöglichen einen sehr guten Vergleich über den relativen Resistenzgrad zwischen den

Sorten. Allerdings ist zu berücksichtigen, daß in den Beobachtungsjahren günstige Infektionsbedingungen für einen außerordentlich hohen *Plasmopara*-Befall nicht gegeben waren. Bei entsprechenden Witterungsbedingungen ist daher mit einem insgesamt höheren Befallsgrad zu rechnen.

Zur Ermittlung der Weinqualität wurden Weine von insgesamt 41 Sorten mit guten *Oidium*- und/oder *Plasmopara*-Resistenzeigenschaften ausgebaut. (BAZ-5105)

207

7. Dokumentation der Weinbauforschung - Documentation of viticulture

Klenert, M.

Aus 400 fachwissenschaftlichen Zeitschriften wurden im Berichtsjahr ca. 1000 Arbeiten erfaßt, ausgewertet und in der Datenbank VITIS-VEA (VITIS - Viticulture and Enology Abstracts) abgespeichert. 600 dieser DEs sind in "VITIS - Berichte über Rebenforschung mit Dokumentation der Weinbauforschung" publiziert worden. Neu aufgenommen wurde die Erfassung der praxisorientierten deutschen Literatur. Sie umfaßt etwa 250 Artikel. Bei der Anfertigung der Referate unterstützten uns etwa 150 in- und ausländische Wissenschaftler und Wissenschaftlerinnen. Durch regelmäßige Sichtung von Sekundärliteratur (gedruckte Form, Disketten) und gezielten Recherchen in einschlägigen Datenbanken (hauptsächlich BIOSIS) konnte die Literaturerfassung vervollständigt werden. Die Datenbank VITIS-VEA enthält heute nahezu 32000 DEs. Kommerziell wird die Datenbank von IFIS (International Food Information Service, Frankfurt/Main) angeboten. Im Berichtszeitraum wurden über den online-Anschluß zu DIMDI und STN etwa 40 Recherchen für Wissenschaftler im Hause und für Dritte durchgeführt. Die Aktualisierung der Literaturzusammenstellungen "Kreuzungszüchtung" für den Zeitraum 1976 bis 1992 und "In-vitro-Kultur bei Reben" (1990 bis 1993) wurde abgeschlossen.

208

8. Screening von farbstoffliefernden Pflanzen - Screening of dye-delivering plants

Kaiser, R.

Aus einer Vielzahl von Färbepflanzen wurden Färberwaid (*Isatis tinctoria*) und Färberwau (*Reseda luteola*) evaluiert und züchterisch bearbeitet. Beim Färberwaid (blauer Farbstoff) wurden Ertragsdifferenzen von 2 bis 871 g Frischgewicht/Pflanze festgestellt. Einzelpflanzen mit über 500 g Frischgewicht wurden ausgelesen und vermehrt. Beim Färberwau (gelber Farbstoff) liegen die Einzelpflanzenenerträge zwischen 14 bis 269 g bei einem Farbstoffgehalt von 1,0 bis 2,3 %. 8 ertragreiche Einzelpflanzen wurden selektiert. (BAZ-5124)

209

V. Wissenschaftliche Zusammenarbeit

Inland

Aachen:

Rheinisch-Westfälische Technische Hochschule
 Institut für Biologie I, Prof. Kreuzaler, Dr. Fischer

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. Schiemann, Dr. Smalla, Dr. J. Vetten
 Institut für Pflanzenschutz in Ackerbau und Grünland, Prof. Bartels, Dr. Burgermeister, Dr. Flath,
 Dr. Mielke, Dr. Niepold, Dr. Pfeilstetter, Dr. Sachs, Dr. Schöber-Butin
 Institut für Pflanzenschutz im Gartenbau, Dr. Brielmeier-Liebetanz, Dr. Mattusch
 Institut für Pflanzenschutz im Obstbau, Dossenheim, Prof. Zeller

Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft
 Institut für Bodenbiologie, Prof. Munch, Dr. Tebbe

Technische Universität Braunschweig:
 Institut für Allgemeine Botanik, Frau Dr. Schulze, Herr Hänsch
 Institut für Genetik, Biozentrum, Prof. Cerff, Dr. Hehl

Bad Schwartau:

Saatzucht Dr. h. c. R. Carsten, Dr. Jacobi

Bergholz-Rehbrücke:

Deutsches Institut für Ernährungsforschung, Dr. Täufel
 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, Prof. Willmitzer

Pflanzenschutzamt

Herr Braunmiller, Herr Gerlach

Bernburg:

Fachhochschule Anhalt, Dr. Meyer, Dr. Trensche
 Hochschule "Thomas Müntzer", Prof. Kratzsch, Dr. Schnüber

Bielefeldt:

Universität Bielefeldt
 Fakultät für Biologie, Lehrstuhl für Gentechnologie/Mikrobiologie, Prof. Eichenlaub
 Lehrstuhl für Genetik, Dr. Broer

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

Erfurt-Kühnhausen:

Abteilung Zierpflanzen des Blaue Liste Institutes für Gemüse- und Zierpflanzenbau

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

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

Giessen:

Justus-Liebig-Universität

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Prof. Friedt

Göttingen:

Georg-August-Universität

Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Prof. Röbbelen, Dr. Stelling

Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz, Dr. Groß, Dr. Rudolph, Prof. Wolf

Halle/Saale:

Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg

Landwirtschaftliche Fakultät

Institut für Pflanzenzüchtung und Pflanzenschutz, Prof. Fuchs, Dr. Sperling

Institut für Phytopathologie, Dr. Sperling

Hamburg:

Universität Hamburg

Institut für Allgemeine Botanik, Dr. Becker, Prof. Dörffling, Prof. Heinz, Prof. Lörz,

Prof. Wienand, Frau Jahnke

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

Hohenheim:

Landessaatzuchtanstalt, Dr. v. Kittlitz, Dr. Posselt

Universität Hohenheim

Institut für Obst-, Gemüse- und Weinbau, Dr. Reustle
Institut für Pflanzenernährung, Prof. Marschner, Prof. Römheld
Institut für Pflanzenzüchtung, Prof. Geiger, Dr. Miedaner

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. Steinbiss, Dr. Uhrig

Langenbrücken:

HYBRO GbR Saatzucht, Dr. Wortmann

Leutewitz:

DSV, Frau Schütze

Magdeburg:

Landespflanzenenschutzamt Sachsen-Anhalt, Dr. Hartleb

Markranstädt:

Weizenstärkefabrik, Dr. Schirner

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 Obstbau, Dr. Treutter, Dr. Gutmann, Dr. Mayer

Oldenburg:

Universität Oldenburg
Fachbereich Biologie/AG Genetik, Prof. Wackernagel, Dr. Lorenz

Potsdam:

Universität Potsdam
Fachbereich Biologie, Dr. Mittelstädt

Quedlinburg:

Lehr- und Versuchsanstalt für Gartenbau und Technik, Dr. Schaefer, Herr Schreyer

Rostock:

Universität Rostock
Fachbereich Biologie, Fachgruppe Phytoentomologie, Dr. Thieme
Fa. Biorat GmbH, Frau Schmidt

Söllingen:

Fa. Strube Saatzucht, Frau Strube

Stuttgart:

Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt, Dr. Posselt

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

Ausland

Australien:

Commonwealth Scientific and Industrial Research Organisation (CSIRO)
Division of Horticulture, Dr. Lowey
Aufgabe: Erforschung der Trockenresistenz bei Rebsorten und -unterlagen

Waite University, Adelaide
Faculty of Agricultural and Natural Resource Sciences, Department of Horticulture,
Viticulture and Oenology, Dr. Dry
Aufgabe: Erforschung der Trockenresistenz bei Rebsorten und -unterlagen

Belgien:

Catholic University of Leuven
Fruittelcentrum, 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:

Agraruniversiti Gansu, Lanzhou, Prof. Lao Ziyi
Aufgabe: Untersuchungen zur Erzeugung haploider Reben über die In-vitro-Kultur

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, 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
Aufgabe: Antigenanalyse und molekularbiologische Charakterisierung von Pflanzenviren

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

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 Station de Recherches "Grandes Cultures"

Laboratoire de Zoologie Colmar

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

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, Tbilissi,
 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'

Groß Britannien:

AFRC-IGER, Dr. Morris

Aufgabe: COST 822: Entwicklung von Integrationssystemen zur umfangreichen Vermehrung von Elitepflanzen durch In-vitro-Technik

Horticultural Research Internation, 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, Prof. B. Rakah

Aufgabe: Beziehungen zwischen Enzymmarkern u. der Resistenz gegen pathogene Pilze beim Weizen

ARO Volcani Center, Prof. Spiegel-Roy

Aufgabe: Entwicklung von molekulargenetischen Markern bei *Vitis*

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'

Instituto Agraria Provinciale, San Michele, Dr. Versini

Aufgabe: Aufklärung sortencharakteristischer Aromastoffe sowie unerwünschter Aromanoten

Instituto 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 div. 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

Universität Guelph, Prof. Kasha

Aufgabe: Genomanalyse bei Gerste

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'

Laboratorium voor monoklonale Antistoffen, Wageningen, Dr. Schots

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

Plantenziektenkundige Dienst
Abt. Bakteriologie, Wageningen, Dr. Janse
Aufgabe: Optimierung von Methoden zum Nachweis bakterieller Krankheitserreger
(*Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii*, *Pseudomonas solanacearum*)

Prüfstation für Obst Wilhelminadorp, 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), Dr. Dorokov

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

Institut für Landwirtschaft der Zentralen Schwarzerdezone, Woronesh

Aufgabe: Identifizierung von Resistenzgenen beim Roggen

Vavilow-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

Wissenschaftl. Produktionsvereinigung für Wein, Rostow, Dr. Muzichenko

Aufgabe: Züchtung und genetische Ressourcen bei Wein

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

Forschungsinstitut für Weinbau und Kellerwirtschaft, Prof. van Wyk, Dr. Marais

Aufgabe: Aufklärung sortencharakteristischer Aromastoffe

Tschechoslovakei:

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

Ukraine:

Wiss. Forschungsanstalt für Reben und ihre Verarbeitungsprodukte, Dr. Troshin

Aufgabe: Vergleichende ampelographische Studien bei Reben

Ungarn:

Agricultural Research Institute, Mrtonvasar, 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

VI. Veröffentlichungen

Publikationen

Institut für Zierpflanzenzüchtung Ahrensburg

- ALTENHEIN, C.; LIEBEREI, R.; PREIL, W.: Comparative immunological studies: polyphenoloxidases in embryogenic and non-embryogenic cells of *Euphorbia pulcherrima*. IAPTC Tagung, Hannover, Book of Abstracts, 1994, 52
- ALTENHEIN, C.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Polyphenoloxidase: characterization of a plastid localized enzyme marker for somatic embryogenesis. VIII. Int. IAPTC Congress, Firenze, Italy. Book of Abstracts, 1994, 180
- CHAANIN, A.; PREIL, W.: Eisenstreß-Reaktionen bei Rhododendron. BDGL Schriftenreihe **12**, 1994, 144
- CHAANIN, A.; PREIL, W.: Influence of bicarbonate on iron deficiency chlorosis in Rhododendron. Acta Hort. **364**, 1994, 71-77
- CHAANIN, A.; PREIL, W.: Vergleichende in vivo- und in vitro-Untersuchungen zur Wirkung von HCO_3^- auf das Wachstum von Rhododendron. BDGL Schriftenreihe **12**, 1994, 46
- DUNEMANN, F.: Molecular classification of *Malus* with RAPD markers. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 295-300
- DUNEMANN, F.; KAHNAU, R.; SCHMIDT, H.: Genetic relationships in *Malus* evaluated by RAPD fingerprinting of cultivars and wild species. Plant Breeding **113**, 1994, 150-159
- GRUNEWALDT, J.: Perspektiven der Zierpflanzenzüchtung. ZVG Gartenbau Report **20**, 1994, 16-22
- KOCH, K.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Extracellular proteins in embryogenic and non-embryogenic suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima*. VIII. Int. IAPTC Congress, Firenze, Italy. Book of Abstracts, 1994, 186
- KOCH, K.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Untersuchungen zur Konditionierung des Kulturmediums von embryogenen und nicht-embryogenen Suspensionskulturen von *Euphorbia pulcherrima*. IAPTC Tagung, Hannover, Book of Abstracts, 1994, 51
- KRÜGER, J.: Observations on different mildew sources used in apple breeding at Ahrensburg. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 7-12
- KRÜGER, J.: Observations on different mildew sources used in apple breeding at Ahrensburg. Euphytica **77**, 1994, 1-6
- PARISI, L.; LESPINASSE, Y.; GUILLAUMES, J.; KRÜGER, J.: A new race of *Venturia inaequalis* virulent to apples with resistance due to the Vf gene. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 79
- PREIL, W.: Die Züchtung bei Poinsettien: Suche nach dem "Verzweigungsfaktor". Deutscher Gartenbau, **45**, 1994, 2676-2678

- PREIL, W.: In vitro culture of poinsettia. In: Stromme, E. (Ed.): The Scientific Basis of Poinsettia Production. Agricult. Univ. of Norway, As, 1994, 49-55
- PREIL, W.: Neue Zahlen zur Gewebekultur. Taspo Gartenbaumagazin, **12**, 1994, 38-40
- PREIL, W.: The study of chimerism, elimination of virus, and the induction of mutagenesis in poinsettia. In: Stromme, E. (Ed.): The Scientific Basis of Poinsettia Production. Agricult. Univ. of Norway, As, 1994, 57-63
- PREIL, W.; EBBINGHAUS, R.: Breeding of lime tolerant *Rhododendron* rootstocks. Acta Hort. **364**, 1994, 61-70
- PREIL, W.; EBBINGHAUS, R.; CHAANIN, A.: Torffreie *Rhododendron*kulturen. Forschungsreport, BML, Bonn, **10**, 1994, 17-19
- SCHEEWE, P.: Identification of pathogenic races of *Phytophthora fragariae* Hickman in Germany. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 67-71
- SCHEEWE, P.: Identification of pathogenic races of *Phytophthora fragariae* Hickman in Germany. Euphytica **77**, 1994, 25-29.
- SCHEEWE, P.; KETZEL, A.: In vitro screening for resistance against powdery mildew (*Podosphaera leucotricha* [Ell. et Ev.] Salm.) in apple. Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz **101**, 1994, 368-377
- SCHMIDT, H.: Progress in combining mildew resistance from *Malus robusta* and *Malus zumi* with fruit quality. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 3-6
- SCHMIDT, H.; KETZEL, A.: Raising sweet cherry seedlings by using in vitro techniques. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 381-383
- SCHUM, A.; JUNGE, H.; MATTIESCH, L.: Plant Regeneration from Protoplasts of *Allium porrum* L. Gartenbauwissenschaft **59**, 1994, 26-30
- SCHUM, A.; MATTIESCH, L.; STÖLDT, A.: Fundamentals for integration of cms into *Allium porrum* L. Allium Improvement Newsletter **3**, 1994, 4-6
- STROLKA, B.: Influence of NH_4^+ and NO_3^- on somatic embryogenesis from long-term suspension cultures of *Cucumis sativus* L. VIII. Int. IAPTC Congress, Firenze, Italy. Book of Abstracts, 1994, 201
- STROLKA, B.; GRUNEWALDT, J.: Einfluß von NH_4^+ und NO_3^- auf die somatische Embryogenese aus Langzeitsuspensionskulturen von *Cucumis sativus* L. IAPTC Tagung, Hannover, Book of Abstracts, 1994, 64
- WEBER, J.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Bioreaktor-Kultur von *Clematis tangutica*: Nährstoffaufnahme von embryogenen Suspensionskulturen. IAPTC Tagung, Hannover, Book of Abstracts, 1994, 50
- WEBER, J.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Somatic embryogenesis in bioreactor culture of *Clematis tangutica*. VII. Int. IAPTC Congress, Firenze, Italy. Book of Abstracts, 1994, 202
- WINKELMANN, T.: Analyse von Pflanzen aus Protoplastenkultur von *Saintpaulia ionantha* (H. WENDL.). IAPTC Tagung, Hannover, Book of Abstracts, 1994, 18
- WINKELMANN, T.; GRUNEWALDT, J.: Protoplast Culture in *Saintpaulia ionantha* and *Episcia cupreata* with the aim of somatic hybridization. IAPTC Congress, Firenze, Italy. Book of Abstracts, 1994, 4-25
- WINKELMANN, T.: Zur Transformation, Protoplastenregeneration und -fusion bei *Saintpaulia ionantha* und *Episcia spec.*, Dissertation, Universität Hannover, 1994

- YANG, H. A.; SCHMIDT, H.: Selection of a mutant from adventitious shoots formed in X ray treated cherry leaves and differentiation of standard and mutant with RAPDs. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 287-290
- YANG, H. A.; SCHMIDT, H.: Selection of a mutant from adventitious shoots formed in X ray treated cherry leaves and differentiation of standard and mutant with RAPDs. *Euphytica* **77**, 1994, 89-92
- YANG, H. Y.; KRÜGER, J.: Identification of a RAPD marker linked to the Vf gene for scab resistance in apples. *Plant Breeding* **112**, 1994, 323-329
- YANG, H. Y.; SCHMIDT, H.: Einfluss verschiedener Auxine auf die in vitro Bewurzelung von Süßkirschsor-ten (*Prunus avium* L.). *Gartenbauwissenschaft* **59**, 1994, 45-47
- YANG, H. Y.; KRÜGER, J.: Identification of a RAPD marker linked to the Vf gene for scab resistance in apple. Developments in Plant Breeding. Progress in Temperate Fruit Breeding, H. SCHMIDT and M. KELLERHALS (Eds.), Kluwer Academic Publishers, 1994, 281-284
- YANG, H. Y.; KRÜGER, J.: Identification of a RAPD marker linked to the Vf gene for scab resistance in apples. *Euphytica* **77**, 1994, 83-87

Institut für Resistenzforschung

Aschersleben

- BARCHEND, G.; SCHUBERT, J.: Vergleichende Untersuchungen zur Transformationseffizienz von Kartoffeln mit verschiedenen Konstrukten des Hüllproteingens des Kartoffel-Y-Virus (PVY). *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, S. 239
- HOMMEL, B.; EHRIG, F.: Studies to the transovarial transmission of endosymbionts of the greenhouse whitefly *Trialeurodes vaporariorum*. *Endocytobios and Cell Res.* **10**, 1993/1994, 273
- KASTIRR, U.; PFEILSTETTER, E.; BURGERMEISTER, W.: Virus content and phytopathogenicity of *Polyomyxa betae* Keskin isolates obtained from regions in Europe. *J. Phytopathol.* **141**, 1994, 369 - 374
- KOPAHNKE, D.; NACHTIGALL, M.; WOLF, G.A.: Ermittlung von Enzymaktivitäten - Eine Möglichkeit zur Resistenzbewertung von Sommergersten gegenüber *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 286
- NACHTIGALL, M.; KOPAHNKE, D.; WOLF, G.A.: Produktion extrazellulärer Polysaccharid-abbauender Enzyme bei *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. *in vitro* und *in vivo*. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **28**, 1994, 89-91
- RICHTER, S.; BALDE, M.; EHRIG, F.: Morphologische und histologische Veränderungen an temperatur- und wassergestressten Ackerbohnen- und Gerstenpflanzen. *Arch. Phytopathol. Pflanzensch.* **29**, 1994, 1-12
- SCHUBERT, J.; NIELITZ, M.: Klonierung und Sequenzierung des 3'-Endes der RNA eines Virus aus Porree. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, S. 228
- SCHUBERT, J.; SCHLEGEL, H.; BARCHEND, G.: Untersuchungen zur Transformationseffizienz von Kartoffeln mit einem PVY Hüllproteingen-Konstrukt. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **28**, 1994, 226-228
- TIMPE, U.; KÜHNE, TH.: The complete nucleotide sequence of RNA 2 of barley mild mosaic virus (BaMMV). *Europ. J. Plant Pathol.* **100**, 1994, 233-241
- Abschlußbericht: Entwicklung einer Methode zur Frühselektion von *Dactylis*-Zuchtmaterial auf Resistenz gegen *Mastigospirium* spp. (BAZ-Thema 2108) Kastirr

Institut für Pathogendiagnostik Aschersleben

- ANDREEVA, L.; JÄRVEKÜLG, L.; RABENSTEIN, F.; TORRANCE, L.; HARRISON, B.D.; SAARMA, M.:
Antigenic analysis of potato virus A particles and coat proteins. *Ann. appl. Biol.* **125**, 1994, 337-348
- GABLER, J.: Epidemisches Auftreten der fusariösen Basalfäule an Narzissen. *Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.* **46**, 1994, 19
- GRAICHEN, K.; RABENSTEIN, F.: Differenzierung der an Raps (*Brassica napus* L.) und Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) auftretenden Luteoviren. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 218 (Abstract)
- GRAICHEN, K.; RABENSTEIN, F.: Differenzierung und Charakterisierung von Isolaten des beet western yellows/beet mild yellowing - Komplexes. *Phytopathologie* **24**, H. 1, 1994, 50-51
- GRIESBACH, Erika.; NAUMANN, K.: Samenübertragbare Bakteriosen bei Gemüsekulturen. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **29**: Ausgewählte Vorträge 1993/1994, 1994, 95-108
- KRÄMER, I.: Charakterisierung und Differenzierung von *Xanthomonas campestris*-Pathovaren mittels PCR. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 158 (Abstract)
- KRÄMER, R.; LEISTNER, H.-U.; PROLL, E.: Resistenzevaluierung von Brassicaformen gegen das Turnip Mosaic Virus. *Phytopathologie* **24**, H. 1, 1994, 49 (Abstract)
- LESEMANN, D.-E.; HUTH, W.; RABENSTEIN, F.: Serologische und zytologische Klassifizierung der Gramineen infizierenden durch Milben übertragbaren Potyviridae. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 229
- NAUMANN, K.; KRÄMER, I.; RABENSTEIN, F.: Development of diagnostic methods for plant pathogenic bacteria. *Proc. of the XIII. Czech and Slovak Plant Protection Conference in Prague. September 12. - 15th, 1994*, pp. 49-54
- NAUMANN, K.; SCHMIDT, Anita: Ergebnisse sechsjähriger Untersuchungen zur Reaktivierung von holdover-cankern des Feuerbrandes in einer Obstversuchsanlage. *Phytopathologie* **24**, H. 2, 1994, 9-10
- PROLL, E.; LEISTNER, H.-U.; KRÄMER, R.: Nachweis und Differenzierung von turnip mosaic potyvirus-Isolaten mit biologischen, serologischen und molekularbiologischen Methoden. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 168 (Abstract)
- RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; PROESELER, G.; LELLBACH, H.: Entwicklung von Enzymimmunoassays zur Bewertung der Resistenz gegen das ryegrass mosaic virus. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **28**, 1994, 303-305
- RABENSTEIN, F.; ZIELKE, R.; NAUMANN, K.: Nachweis von *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* mit polyklonalen Antiseren und monoklonalen Antikörpern. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **28**, 1994, 327-329
- RICHTER, J.; PROLL, E.; RABENSTEIN, F.; STANARIUS, A.: Serological detection of members of the Potyviridae with polyclonal antisera. *J. Phytopathol.* **142**, 1994, 11-18
- ZIELKE, R.; NAUMANN, K.: Untersuchungen zum serologischen Nachweis der Bakteriellen Schleimfäule, *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith, an Kartoffeln. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 162 (Abstract)

Institut für Epidemiologie und Resistenz

Aschersleben

- EISBEIN, K.; EHRIG, F.; GRIESBACH, E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Samenübertragung von *Clavibacter michiganensis* spp. *michiganensis* bei Tomate. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 118
- GEISSLER, K.: Eignung des Granulose-Virus des Apfelwicklers (*Cydia pomonella* L.) zur Bekämpfung des Erbsenwicklers (*Cydia nigricana* Steph.). Arch. Phytopathologie Pfl.schutz **29**, 1994, 191-194
- GEISSLER, K.: Eignung des Granulosevirus-Präparates "Granupom" des Apfelwicklers (*Cydia pomonella* L.) zur Bekämpfung des Erbsenwicklers (*Cydia nigricana* Steph.). Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 365
- GRAICHEN, K.: Nachweis von Resistenz gegenüber dem Turnip Yellow Luteovirus (TuYV) in Winterraps und verwandten Arten. Vorträge für Pflanzenzüchtung **30**, 1994, 132-143
- GRAICHEN, K.: Differenzierung der an Winterraps und Zuckerrübe auftretenden Luteoviren durch Wirtskreisvergleiche. Rapssymposium zu Fragen der Phytopathologie und des Pflanzenschutzes, Rostock, 13./14. Oktober 1994, 47-50
- GRAICHEN, K.; PETERKA, H.: Prüfung und Selektion von Raps (*Brassica napus* L.) und verwandte Arten auf Resistenz gegen das Beet Western Yellow Virus. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 274-276
- GRAICHEN, K.; PETERKA, H.: Resistenz gegen das Beet Western Yellow Virus bei Winterraps (*Brassica napus* L.) und verwandten Arten. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 232
- GRAICHEN, K.; PETERKA, H.: Resistenz von Winterraps (*Brassica napus* L.) und seinen Ausgangsformen gegenüber dem Beet Western Yellow Virus. Rapssymposium zu Fragen der Phytopathologie und des Pflanzenschutzes, Rostock 13./14. Oktober 1994, 69-72
- GRAICHEN, K., RABENSTEIN, F.: Differenzierung der an Raps (*Brassica n apus* L.) und Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) auftretenden Luteoviren. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 218
- GRIESBACH, E.; NAUMANN, K.: Samenübertragbare Bakteriosen bei Gemüsekulturen. Vorträge für Pflanzenzüchtung, Quedlinburg, **29**, 1994, 95-108
- HABEKUSS, A.: Evaluation of winter barley for resistance to barley yellow dwarf virus. Abstracts First International Seminar Cereal-Pathogens and Stress Factors Interaction. Progress to Ecological Agriculture, 13.-15.9.94, Poznan, Polen, 65
- GRIESBACH, E.: Paprika-Bakteriosen: Natürliches Auftreten sowie ihre Entwicklung nach künstlicher Inokulation. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 117
- HABEKUSS, A.: Evaluation of winter barley for resistance to barley yellow dwarf virus. Abstracts First International Seminar Cereal-Pathogens and Stress Factors Interaction. Progress to Ecological Agriculture, 13.-15.9.1994, Poznan, Polen, 65
- HABEKUSS, A.; OBST, A.: Neues zu ml-o Blattflecken bei Sommergerste. Pflanzenschutz-Praxis **2**, 1994, 42-44
- HABEKUSS, A.; PROESELER, G.: Virusresistenz im Wintergerstensortiment der Genbank Gatersleben. Mitt. a.d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 273
- HUTH, W.; GÖTZ, R.; LESEMANN, D.-E.; MAISS, E.; PROESELER, G.; VETTEN, H.J.; SIGNORET, P.: Brome streak mosaic virus - ein bisher übersehenes Virus des Getreides? Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 216

- KICHERER, S.; WALTHER, U.; JAHOOOR, A.; FISCHBECK, G.: Versuche zur Charakterisierung und Markierung von Gerstenpopulationen bezüglich ihrer Resistenz gegen Zwergrost. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 178-180
- KOPAHNKE, D.; NACHTIGALL, M.; WOLF, G.A.: Ermittlung von Enzymaktivitäten - eine Möglichkeit zur Resistenzbewertung von Sommergersten gegenüber *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 286
- MÜLLER, D.; WALTHER, U.; WOLF, G.: Eignung eines Enzymtests zur Differenzierung von Sommergersten mit unterschiedlichem Niveau quantitativer Zwergrostresistenz. Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 287
- NACHTIGALL, M.; KOPAHNKE, D.; WOLF, G.A.: Produktion extrazellulärer Polysaccharid-abbauender Enzyme bei *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. in vitro und in vivo. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 89-91
- PROESELER, G.: Prospects for continued virological collaboration between Kostinbrod and Aschersleben. Abstr. Internat. Conf. Plant Virol., Apriltsi Bulgarien, 1994, S. 4
- RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; PROESELER, G.; LELLBACH, H.: Entwicklung von Enzymimmunoassays zur Bewertung der Resistenz gegen das ryegrass mosaic virus. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 303-305
- RICHTER, K.: Ermittlung der Feuerbrandresistenz von Obstgehölzen. Vorträge für Pflanzenzüchtung **27**, 1994, 69-70
- SCHREIBER, H.; HABEKUSS, A.: Somatic intralocus recombination and changed gene expression take place synchronously at several loci in barley (*Hordeum vulgare* L.). Genes, Chromosomes, Genomes **2**, 1994, 78
- WALTHER, U.: Die Populationsdynamik von *Puccinia hordei* Oth und ihre Beeinflussung durch biotische und abiotische Faktoren anhand der Ergebnisse langjähriger und großräumiger Virulenzgenüberwachung. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 83-85

Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz

- BLANKE, M.M.; HÖFER, M.; PRINGS, R. J.: Stomata and Structure of Tetraploid Apple leaves cultured in Vitro. Annals of Botany **73**, 1994, 651-654
- DATHE, B.: Unterschiede in der Anfälligkeit von Erdbeere gegen *Verticillium*. Obstbau **8**, 1994, 405-407
- FISCHER, C.: Breeding apple cultivars with multiple resistance. In: SCHMIDT, H.; KELLERHALS, M. (Eds.), Progress in Temperate Fruit Breeding, 1994. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 1994, 43-48
- FISCHER, C.: Shortening of the juvenile period in apple breeding. In: SCHMIDT, H.; KELLERHALS, M. (Eds.), Progress in Temperate Fruit Breeding, 1994. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 1994, 161-164
- FISCHER, C.: Nutzung von Wildarten und Kultursorten in der Resistenzzüchtung beim Apfel. Vorträge für Pflanzenzüchtung **27**, 1994, 38-50
- FISCHER, C.: *Malus*-Wildarten als Resistenzquelle gegen Mehltau in der Apfelzüchtung. Vorträge für Pflanzenzüchtung **27**, 1994, 75-79
- FISCHER, C.: Konzept für dauerhafte Schorfresistenz beim Apfel. Obstbau **19**, 1994, 228-230

- FISCHER, C.: Nutzung von *Malus*-Wildarten und Kultursorten in der Resistenzzüchtung bei Apfel. Erwerbsobstbau **36**, 1994, 208-212
- FISCHER, C.: Neue resistente Apfelsorten aus Pillnitz. 'Rewena' - eine mehrfachresistente Winterapfelsorte. Obstbau **19**, 1994, 596
- FISCHER, C.; FISCHER, M.: Härtetest für Pi- und Re-Sorten. Obstbau **19**, 1994, 537-539
- FISCHER, C.; BONDARENKO, A.; ARTAMONOVA, E.: Results on the stability of scab resistance in apple breeding. In: SCHMIDT, H.; KELLERHALS, H. (Eds) Progress in Temperate Fruit Breeding. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 1994, 81-86
- FISCHER, C.; BUKARTSCHUK, V.; ARTAMONOVA, E.; BIWOL, T.: Genetische Analyse der Resistenzmerkmale Schorf und Mehltau in diallelen Kreuzungsnachkommenschaften beim Apfel. Vorträge für Pflanzenzüchtung **27**, 1994, 71-74
- FISCHER, M.; FISCHER, C.: 'Pi-' und 'Re-', auch für Österreich interessant? Obst, Wein, Garten; Graz (Österreich) **63**, 1994, 4-6
- FISCHER, M.; FISCHER, C.: Verminderter Pflanzenschutzmitteleinsatz durch Resistenzzüchtung. Erwerbsobstbau **36**, 1994, 150-155
- HANKE, V.: Plant regeneration from tissue cultures of *Malus* species: The importance of the Genotype. In: SCHMIDT, H. und M. KELLERHALS (Eds.) Progress in Temperate Fruit Breeding. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 1994, 365-370
- HANKE, V.; FISCHER, M.: Biotechnologie - eine Chance für die Obstzüchtung? Erwerbsobstbau **2**, 1994, 32-36
- HANKE, V.: Selection in seedling populations and clonal progenies of strawberry (*Fragaria ananassa* Duch.). In: SCHMIDT, H. u. M. KELLERHALS (Eds.) Progress in Temperate Fruit Breeding. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 1994, 193-197
- HÖFER, M.: In vitro androgenesis in apple: Induction, regeneration and ploidy level. In: SCHMIDT, H.; KELLERHALS, M. (Eds.), Progress in Temperate Fruit Breeding, 1994. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht-Boston-London. 399-402
- HÖFER, M.; HANKE, V.: Antherenkultur bei Apfel und Kirsche: Einfluß des Pollenentwicklungsstadiums - Korrelative Beziehungen zu morphologischen Blütenmerkmalen. Gartenbauwissenschaften **59**, 1994, 225-228
- KRIEGHOFF, O.; HANKE, V.: Nutzung von *Malus*-Wildarten in der Züchtungsforschung: In-vitro-Vermehrung und Protoplastentechnologie. Vorträge für Pflanzenzüchtung **27**, 1994, 308-321
- SCHREIBER, H.; HABEKUSS, A.: Somatic intralocus recombination and changed gene expression take place synchronously at several loci in barley (*Hordeum vulgare* L.). Genes, Chromosomes, Genomes **2**, 1994, 78
- SCHUBERT, V.; BLÜTHNER, W.D.; JUNGHANS, W.; OERTEL, C.; SCHUSTER, M.: Agronomische Leistung Hohenthurmer Weizenlinien mit Resistenz gegenüber Echtem Mehltau. Vorträge für Pflanzenzüchtung, **28**, 1994, 162-164
- WOLFRAM, B.; MIHATSCH, G.: 'Namare' und 'Nabigos' zwei neue Süßkirschensorten aus Dresden-Pillnitz. Erwerbsobstbau **36**, 1994, 124-126

Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

DARSOW, U.; HINZE, E.; OERTEL, H.; SCHÜLER, K.: Relative Braunfäuleresistenz bei *Solanum tuberosum* ssp. *andigena*. *Potato Research* **36**, 1993, 161-170

TIEMANN, H.; GERATH, H.: Beiträge der Züchtungsforschung an Kulturpflanzen zum umweltgerechten Pflanzenbau. Rostock. *Agrar- und Umweltwiss. Beitr.* (1993)1, 89-99

TIEMANN, H.: Züchterische Aspekte zur Verbesserung von Qualitätseigenschaften bei der Kartoffel unter Einbeziehung der dihaploiden Valenzstufe. 44. Tagung der 'Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtleiter' in Gumpenstein (1993), 123-126

Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

MICHEL, M.; G. PROESELER; M. SCHOLZ; R. PICKERING; G. MELZ: Transfer von *H. bulbosum* - Genen in die Kulturgerste; Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 87-189

TIEMANN, H.; GERATH, H.: Beiträge der Züchtungsforschung an Kulturpflanzen zum umweltgerechten Pflanzenbau; Beiträge zur wissenschaftlichen Jubiläumstagung Landnutzung und Umweltschutz, 1993, H. 1, 89 - 99

Institut für Streißphysiologie und Rohstoffqualität Groß Lüsewitz

FLAMME, W.: Die Züchtung von Getreide als Industrierohstoff. 9. Internationale Tagung zu Problemen der Getreideverarbeitung und Getreidechemie. Bergholz-Rehbrücke, Proceedings, 1993, 91-105

FLAMME, W.: Methoden und Ergebnisse der Züchtung auf Stärkequalität bei landwirtschaftlichen Nutzpflanzen. Bericht über die Arbeitstagung "Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter", 1993, 47-62

EFFMERT, B.; FLAMME, W.; DILL, P.: Qualitätseigenschaften von Winterroggen und Kartoffeln mit Prüfung auf Nährstoffeffizienz (low input). Bericht über die Arbeitstagung "Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter", 1993, 189-190

DILL, P.; FLAMME, W.: Verbesserung der Qualitätseigenschaften in Roggenpopulationen - Methoden und Ergebnisse. Bericht über die Arbeitstagung "Vereinigung österreichischer Pflanzenzüchter", 1993, 185-186

FLAMME, W.: Methoden zur Erfassung des Stärkegehaltes und der Stärkequalität im Zuchtprozeß - Bedeutung für die Verarbeitung. GPZ-Bericht über die Wintertagung der AG Kartoffelzüchtung und Pflanzguterzeugung in Göttingen, Beitrag 7, 1993, 21 Seiten

BRUINENBERG, P.M.; FLAMME, W.; RADOSTA, S: The potato as an industrial raw material: Market evolution, new products, technological and biotechnological aspects. Tagungsberichte 12. Dreijahrestagung der Europäischen Gesellschaft für Kartoffelforschung (EAPR), 1993, 85-94

FLAMME, W.; JANSEN, G.; JÜRGENS, H.-U.; JUGERT, M.; HILBER, B.: Methoden und Ergebnisse der Rohstoff- und Stärkeanalytik bei Mark- und Palerbsen. Vorträge für Pflanzenzüchtung **30**, 1994, 243-265

- FLAMME, W.; JÜRGENS, H.-U.; JANSEN, G.: Quantitative determination of amylose and amylopectin in starches by HPSEC with DMSO as solvent and eluent. *AmerLab* 26/14, 1994, 29
- WEGENER, C.; BARTLING, S.; THOMSEN, K.-K.; OLSEN, O.; BAHLOW, R.: Möglichkeiten eines schonenden enzymatischen Aufschlusses von pflanzlichen Geweben. XXIX. Vortragstagung DGQ Quedlinburg "Neue Aspekte der gesundheitlichen Wirkung pflanzlicher Nahrungsmittel", 1994, 407-409
- STELLING, D.; BALKO, C.; VON KITTLITZ, E.: Genotypische Variabilität in der Trockenheitstoleranz von Ackerbohnen, *Vicia faba* L.. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 28, 1994, 277-279
- FLAMME, W.; JANSEN, G.; JÜRGENS, H.-U.; JUGERT, M.; HILBER, B.: Quantitative Bestimmung des Stärke-, Amylose- und Amylopektinanteils von Erbsen mittels Hochdruck-flüssigchromatographie und NIR-Spektroskopie. Abschlußbericht für das Teilprojekt ÖE 74/91 NR-90 NR 027

Institut für Resistenzgenetik Grünbach

- BACKES, G.; FISCHBECK, G.; GRANER, A., and JAHOR, A.: Localization of agronomically important traits in barley (*Hordeum vulgare* L.) by means of RFLP marker. *Barley Genet. Newslett.* 23, 1994, 60-64
- BAUER, E.; DÖRFEL, P.; HERRMANN, R.; HOUBEN, A.; JUNG, C.; KÜNZEL, G.; MARTIN, R.; WENZEL, G., and GRANER, A.: Attempts towards high density mapping around the *ym4* virus resistance locus in barley. *Plant Genome II*, San Diego, 1994, Nr. P 70. (Abstract)
- BAUER, E. und GRANER, A.: Strategien zur hochauflösenden Kartierung im Bereich der *ym4* Virusresistenz bei Gerste. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 28, 1994, 49-51
- FREI, U. und LÖSSL, A.: Molekulare Analyse von Kerngenom und Cytoplasma somatischer Hybriden von *Solanum tuberosum*. *Tagung deutsche Sektion IAPTC*, Hannover, 1994, 19. (Abstract)
- FREI, U., and WENZEL, G.: Differentiation and Diagnosis of *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton with Genomic DNA Probes. *J. Phytopathology* 139, 1993, 229-237
- GRANER, A.: Report of the barley genome mapping workshop. *Plant Genome II*, Town & Country Hotel, San Diego, 1994, 1-3
- GRANER, A.: Genome analysis in barley: Present state and future aspects. *EUCARPIA*, Landquart 1994, 31-32 (Abstract)
- GRANER, A.; BAUER, E.; KELLERMANN, A.; KIRCHNER, S.; MURAYA, J.K.; JAHOR, A., and WENZEL, G.: Progress of RFLP-map construction in winter barley. *Barley Genet. Newslett.* 23, 1994, 53-59
- GRANER, A.; LUDWIG, W.F.; and MELCHINGER, A.E.: Relationships among European barley germplasm: II. Comparison of RFLP and pedigree data. *Crop Sci.* 34, 1994, 1199-1205
- GRANER, A., and MECHELEN, van J.R.: Genomic mapping of lipoxygenase genes. *Barley Genet. Newslett.* 22, 1993, 15-17
- LIND, V.: Züchtung auf Resistenz gegen die Halmbruchkrankheit bei Weizen. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* 28, 1994, 168-170
- LIND, V.: Breeding wheat for resistance to eyespot pathogen, *Pseudocercospora herpotrichoides*. *EUCARPIA*, Landquart 1994, 157-158 (Abstract)
- LTIFI, A., and WENZEL, G.: Anther culture of hot and sweet pepper (*Capsicum annuum* L.): Influence of genotype and plant growth temperature. *Capsicum and Eggplant Newslett.* 13, 1994, 74-77

- LÖSSL, A.; FREI, U. und WENZEL, G.: Molekulare Analyse von Kern- und Organellengenom somatischer Hybriden von *Solanum tuberosum*. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 47-48
- LÖSSL, A.; FREI, U. und WENZEL, G.: Interaction between cytoplasmic composition and yield parameters in somatic hybrids of *S. tuberosum* L. Theor. Appl. Genet. **89**, 1994, 873-878
- MECHELEN, van J.; SMITS, M.; GRANER, A.; VALK, B.E.; HEIDEKAMP, F., and DOUMA, A.E.: Barley lipoxygenase 1: cDNA cloning and genomic mapping. J. Cellular Biochem. **18A**, 1994, 116 (Abstract)
- MELCHINGER, A.E.; GRANER, A.; SINGH, M., and MESSMER, M.M.: Relationships among European barley germplasm: I. Genetic diversity among winter and spring cultivars revealed by RFLPs. Crop Sci. **34**, 1994, 1191-1199
- MÖLLERS, C.; FREI, U., and WENZEL, G.: Field evaluation of tetraploid somatic potato hybrids. Theor. Appl. Genet. **88**, 1994, 147-152
- MOHLER, V. und GRANER, A.: Molekulargenetische Analyse der differentiellen Rekombination im männlichen bzw. weiblichen Gametophyten der Gerste. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 52-54
- POUPARD, P.; GRARE, S.; CAVELIER, N.; and LIND, V.: Development of *Pseudocercospora herpotrichoides* (Fron) Deighton var. *herpotrichoides* and var. *acufiformis* on wheat plants measured by ELISA. J. Phytopath. **140**, 1994, 301-311
- SOROKIN, A.; MARTHE, F.; HOUBEN, A.; PICH, U.; GRANER, A., and KÜNZEL, G.: PCR-mediated localization of RFLP clones to microisolated translocation chromosomes of barley. Genome, **37**, 1994, 550-555
- STATTMANN, M.; GERICK, E.; and WENZEL, G.: Interspecific somatic hybrids between *Solanum khasianum* and *S. aculeatissimum* produced by electrofusion. Plant Cell Reports **13**, 1994, 193-196
- STATTMANN, M. und WENZEL, G.: Molekulargenetische und chemische Analyse interspezifischer somatischer Hybride zwischen *Solanum khasianum* und *S. aculeatissimum*. Tagung deutsche Sektion IAPTC, Hannover, 1994, 77. (Abstract)
- WENZEL, G.: Molecular approaches. Report 4th Meeting of the ECP/GR Barley Working Group, Gatersleben, 1994, 43-48
- WENZEL, G.: Tissue Culture. In: Bradshaw, J.E. Mackay, G.R. (eds.): Potato Genetics, CAB International, Wallingford, 1994, 173-195
- WENZEL, G.: Zellfusion - ein schneller Weg zur Merkmalskombination. In: Biotechnologie in der Pflanzenzüchtung, BMFT, Bonn, 1994, 63-70
- WENZEL, G.: Molekulare Genomdiagnose - ein sicherer Weg zur Erfassung von Merkmalen. In: Biotechnologie in der Pflanzenzüchtung, BMFT, Bonn, 1994, 97-104
- WENZEL, G.: Gentechnik in der Ernährungswirtschaft - Wird die Landwirtschaft bald überflüssig? In: Die zukünftige Entwicklung der Landwirtschaft, 72-83, Hanns-Seidel-Stiftung, München 1994
- WENZEL, G.: Improving disease resistance in plants. Plantnet **3**, 1994, 4-7
- WENZEL, G. (ed.): Theoretical and Applied Genetics, Vol. **87**, **88**, **89**, Springer Verlag, Heidelberg und Berlin, 1994
- WENZEL, G.; FOROUGH-WEHR, B.; FREI, U.; GRANER, A. und LIND, V.: Quantensprünge in der Züchtungsforschung. Phytomedizin **24**, 1994, 7-16
- WENZEL, G.; FREI, U.; LIND, V.; JAHOR, A.; ZELLER, F.J. und GRANER, A.: Moderne Verfahren der Nutzpflanzendiagnostik. Analytica, München, 1994, 42. (Abstract)

WENZEL, G.; GRANER, A.; JAHOOOR, A., and FOROUGH-WEHR, B.: Haploids an integral part of applied and basic breeding research. VIIIth Intern. Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Firenze. 1994, S3-61. (Abstract)

ZELLER, F.J.; FELSENSTEIN, F.G.; LUTZ, J.; HOLZERLAND, A.; KATZHAMMER, M.; KELLERMANN, A.; KÜNZLER, J.; STEPAHN, U.; OPPITZ, K.: Untersuchungen zur Resistenz des Dinkel-Weizens (*Triticum aestivum* (L.) Thell. ssp. *spelta* (L.) Thell.) gegenüber Mehltau (*Erysiphe graminis* f. sp. *tritici*) und Braunrost (*Puccinia recondita* f. sp. *tritici*). *Bodenkultur* **45**, 1994, 147-154

Diplomarbeiten:

COFF, C.: Cloning a gene involved in the host-pathogen interaction/resistance response in wheat to *Pseudocercospora herpotrichoides* (From) Deighton. The Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen, 1994.

SCHMIDT, D.: Molekulargenetische Untersuchung eines hochrepetitiven Sequenzelements des Gerstengenoms. Universität Würzburg, 1994.

Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung Quedlinburg

DOROKHOV, D. B.; KLOCKE, E.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; NEUMANN, M.: Use of RAPD to analyse somatic hybrids between *Brassica oleracea* and *Sinapis alba*. International Symposium Plant Biotechnology and Genetic Engineering, October 3-6, 1994, Kiev, Book of abstracts, 49

PROLL, E.; LEISTNER, H.-U.; KRÄMER, R.: Nachweis und Differenzierung von *turnip mosaic potyvirus*-Isolaten mit biologischen, serologischen und molekularbiologischen Methoden. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 168

RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; KLOCKE, E.; SCHOLZE, P.; NEUMANN, M.: Somatic hybridization in *Brassicaceae*. ISHS Symposium on Brassicas - Ninth Crucifer Genetics Workshop, 15.11. - 19.11.1994 Lissabon - Portugal, Book of abstracts, 98

SCHOLZE, P.: Anfälligkeitsdisposition und -manifestierung bei Alternarien und *Leptosphaeria* in progenerativen Stadien von Gemüsebrassicaceen. *Mitt. a. d. Biol. Bundesanst.* **301**, 1994, 116

SCHUMANN, G.; RYSCHKA, U.; KLOCKE, E.: Artifizielles Saatgut - umhüllte somatische Embryoide. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **29**, 1994, 137 - 148

SCHUMANN, G.; RYSCHKA, U.; KLOCKE, E.: Protoplastenkultur von Kümmel (*Carum carvi* L.). International Association for Plant Tissue Culture - Deutsche Sektion, 03.03. - 05.03. 1994, Hannover, Book of abstracts, 65

Institut für Qualitätsanalytik Quedlinburg

HÖFER, R.; GENNARI, D.: HPTLC-Methode zur quantitativen Zuckerbestimmung in Möhren (*Daucus carota* L.). *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **28**, 1994, 318-21

HÖFER, R.; GENNARI, D.: HPTLC- Methode zur quantitativen Zuckerbestimmung in Möhren (*Daucus carota* L.), Tagungsband der XXIX. Vortragsstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 21.-22.03.1994, Quedlinburg, 305- 310

HOBERG, E.; ULRICH, D.: Untersuchungen zur Qualitätsbewertung von Erdbeeren im Zuchtprozeß. *Vorträge für Pflanzenzüchtung* **28**, 1994, 330-332

- HOBERG, E.: Analytik geschmacksbildender Inhaltsstoffe der Erdbeere. 1. Nichtflüchtige Inhaltsstoffe. Tagungsband der XXIX. Vortragsstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 21.-22.03.1994, Quedlinburg, 294 - 301
- KRÜGER, H.; ZEIGER B.: Die Bestimmung ätherischer Ölgehalte aus Kümmel-extrakten. Drogenreport 6, 1993, 31-32
- KRÜGER, H.: Mögliche Qualitätsuntersuchungen beim Erzeuger. Herba Germanica 2 (2), 1994, 115-119
- PANK, F.; KRÜGER, H.: Nachweis der Korrelation von Inhaltsstoffen in grün- und braunreifen Früchten des einjährigen Kümmels (*Carum carvi* L. f. *annuum*) als Voraussetzung für die Frühselektion. Vorträge für Pflanzenzüchtung 28, 1994, 321-323
- QUILITZSCH, R.: Farbmessungen und Pigmentgehalt bei *Daucus carota* L. und *Pisum sativum* L.. Vorträge für Pflanzenzüchtung 28, 1994, Poster 103.
- QUILITZSCH, R.: Anwendung der Farbmatrik bei *Daucus carota* L.. Tagungsband der XXIX. Vortragsstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 21.-22.03.1994, Quedlinburg, 351 - 358
- PANK, F.; SCHMIDT, W.; SCHRADER, O.: Qualität gegenwärtig genutzter Pfefferminzsorten (*Mentha x piperita* L.) und ihre Eignung für die Produktion von Teedroge. Herba Germanica 2, 1994, 69 - 77

Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse Quedlinburg

- AHNE, R.: Aspekte zum Einsatz der Bildverarbeitung und praktische Anwendung bei der Mikroskopbildanalyse. Zeitschrift für Agrarinformatik 2, 1994, 9-13
- CHAO, J.; CLAUSS, E.; FELDHEIM, W.: Vitamin C-Gehalt und sensorische Eigenschaften neuer Gemüsepflanzen aus Art- und Gattungskreuzungen bei Brassicaceen. 1. Versuchsergebnisse. Tagungsband der XXIX. Vortragsstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung (Pflanzliche Nahrungsmittel) e.V., 21.-22.03.1994, Quedlinburg, 410-417
- DÜRING, K.: A plant transformation vector with a minimal T-DNA. Transgenic Res. 3, 1994, 138-140
- DÜRING, K.: Differential patterns of bacteriolytic activity in potato in comparison to bacteriophage T4 and hen egg white lysozyme. J. Phytopathol. 141, 1994, 159-164
- NOTHNAGEL TH.; BUDAHN H.: Ein CMS - assoziiertes OGURA - mtDNA Fragment in zwei selektierten Linien von *Brassica oleracea* var. *botrytis*. Vorträge für Pflanzenzüchtung 28, 1994, 134-136.
- NOTHNAGEL TH.; STRAKA P.: Artkreuzungen bei *Daucus* zur Induktion cytoplasmatischer männlicher Sterilität (cms). Vorträge für Pflanzenzüchtung 28, 1994, 108-110.
- PETERKA, H.; BUDAHN, H.: Identifizierung von Erbsensorten mit RAPD-Markern. Vorträge für Pflanzenzüchtung 29, 1994, 149-159
- SCHRADER, O.; AHNE, R.: Karyotypanalyse sehr kleiner Pflanzenchromosomen. Vorträge für Pflanzenzüchtung 28, 1994, 22-25
- VAN DEN BERG, G.C.; CLAUSS, E.: Nieuwe kruisbloemige gewassen. Gewas, 2, (1), 1994, 49

Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen

- ALLEWELDT, G.: Physiological modifications of grapevine induced by abiotic stress. Intern. Symp. Grapevine Physiol., Turin, 1993 (erschienen 1994), 271-272
- ALLEWELDT, G.; DETTWEILER, E.: The World List of Grapevine Collections. IRZ Geilweilerhof Siebeldingen, 1994, 2. Auflage
- ALLEWELDT, G.; DETTWEILER, E.: Area of Principal Grape Varieties in Winegrowing Countries. IRZ Geilweilerhof Siebeldingen, 1994
- BACHMANN, O.: Peroxidase isoenzyme pattern in *Vitaceae*. *Vitis* **33**, 1994, 151-153.
- BÜSCHER, N.: Entwicklung molekularer Marker für die Weinrebe (*Vitis* sp.). Diss. Univ. Karlsruhe, 1994
- BÜSCHER, N.; ZYPRIAN, E.: Sortencharakterisierung durch PCR-Methoden am Beispiel der Weinrebe (*Vitis spec.*). In: WINK, M.; WEHRLE, H. (Hrsg.): PCR im medizinischen und biologischen Labor-Handbuch für den Praktiker, GIT-Verlag, 1994, 189-198, Darmstadt
- BÜSCHER, N.; ZYPRIAN, E.; BACHMANN, O., BLAICH, R.: On the origin of the grapevine variety Müller-Thurgau as investigated by the inheritance of random amplified polymorphic DNA (RAPD). *Vitis* **33**, 1994, 15-17
- DETTWEILER, E.: Preliminary List of Resistance Genes in *Vitis*. IRZ Geilweilerhof Siebeldingen, 1994
- EIBACH, R.: Investigations about the genetic resources of grapes with regard to resistance characteristics to powdery mildew (*Oidium tuckeri*). *Vitis* **33**, 1994, 143-150
- EHEMANN, A.; ZYPRIAN, E.: Untersuchungen zur Maukeresistenz bei Reben. Nachrichten aus der BAZ an Kulturpflanzen **2** (2), 1994, 25-29
- FERREIRA, V.; RAPP, A.; CACHO, C.F.; HASTRICH, H.; YAVAS, I.: Fast and quantitative determination of wine flavour compounds using microextraction with freon 113. *J. Agric. Food Chem.* **41**, 1994, 1413-1420
- HAAS, H.U.; BUDAHN, H.; ALLEWELDT, G.: *In situ* hybridization in *V. vinifera* L. *Vitis* **33**, 1994, 271-252
- LANG, A.; DÜRING, H.; HALL, A.: Susceptibility to bunch stem necrosis in grapes: A breeding screen. *Vitis* **33**, 1994, 93-95
- RABSILBER, A.: Lumineszenzmessungen an Zellsuspensionskulturen von *Vitis*: Erarbeitung eines Biotestsystems. Diplomarbeit Univ. Karlsruhe, 1994
- RAPP, A.; HASTRICH, H.; YAVAS, I.; ULLEMEYER, H.: Zur einfachen schnellen Anreicherung ("Kaltronmethode") und quantitativen Bestimmung von flüchtigen Inhaltsstoffen aus Spirituosen. *Die Branntweinwirtschaft* **134**, 1994, 286-289
- RAPP, A.; SUCKRAU, I.; VOLKMANN, C.: Investigation of Grape and Wine Aroma: Contribution to the Characterization of Wines of different Varieties. In: BAYONOVE, C.; VROUZET, J.; FLANZY, C.; MARTIN, J.C.; SAPI, J.C.: "Connaissance aromatique des Cépages et qualité des vins". PRIM'VERT Béziers, 1994, 22-32
- RAPP, A.; YAVAS, I.; HASTRICH, H.: Einfache und schnelle Anreicherung ("Kaltronmethode") von Aromastoffen des Weines und deren quantitative Bestimmung mittels Kapillargaschromatographie. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **90**, 1994, 171-174
- REUSTLE, G.; HARST, M.; ALLEWELDT, G.: Regeneration of grapevine (*Vitis* sp.) protoplasts. *Vitis* **33**, 1994, 173-174

- TSCHAMMER, J.; ZYPRIAN, E.: Molecular characterization of grapevine cultivars of Riesling-type and closely related Burgundies. *Vitis* **33**, 1994, 249-250
- VERSINI, G.; RAPP, A.; DALLA SERRA, A.; PICHLER, U.; RAMPONI, M.: Methyl trans geranate and farnesoate as markers for Gewürztraminer grape skins and related distillates. *Vitis* **33**, 1994, 139-142
- WAGNER, S.; JAKOB, L.; RAPP, A.; NIEBERGALL, H.: Untersuchungen zur Migration aus Tanks aus glasfaserverstärktem Kunststoff in Wein. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* **90**, 1994, 218-222
- ZELLEKE, A.; DÜRING, H.: Evidence for tertiary buds within latent buds of Müller-Thurgau grapevines. *Vitis* **33**, 1994, 96

Vorträge/Poster

Institut für Zierpflanzenzüchtung

Ahrensburg

- ALTENHEIN, C.; LIEBEREI, R.; PREIL, W.: Comparative immunological studies: polyphenoloxidases in embryogenic and non-embryogenic cells of *Euphorbia pulcherrima*. IAPTC Tagung, 03.-05.03.1994, Hannover
- ALTENHEIN, C.; LIEBEREI, R.; PREIL, W.: Polyphenoloxidasen als enzymatische Marker der somatischen Embryogenese. Tagung ADIVK Arbeitsgruppe "Somatische Embryogenese", 24.-25.01.1994, Uni Gießen
- ALTENHEIN, C.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Polyphenoloxidase - characterization of a plastid localized enzyme marker for somatic embryogenesis. VIII. Int. IAPTC Congress, 13.-18.06.1994, Florenz, Italien
- CHAANIN, A.: Zur Wirkung von HCO_3^- auf das Wachstum von Rhododendron. Institut für Pflanzen-ernährung, Uni. Stuttgart, 21.06.1994, Stuttgart-Hohenheim
- CHAANIN, A.; PREIL, W.: Eisenstreß-Reaktionen bei Rhododendron. Deutsche Gartenbauwissenschaftliche Gesellschaft, 16.-18.03.1994, Stuttgart-Hohenheim
- CHAANIN, A.; PREIL, W.: Vergleichende in vivo- und in vitro-Untersuchungen zur Wirkung von HCO_3^- auf das Wachstum von Rhododendron. Deutsche Gartenbauwissenschaftliche Gesellschaft, 16.-18.03.1994, Stuttgart-Hohenheim
- DEBENER, TH.: Genetische und molekularbiologische Charakterisierung von Resistenzgenen in Arabidopsis und Rosen. Institut für Angewandte Genetik der Universität Hannover, 31.10.1994, Hannover.
- DEBENER, TH.: Gentechnische Verfahren zur Erreichung aktueller Zuchtziele. AG Zierpflanzen der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, 25.-26.07.1994, Hann. Münden
- DEBENER, TH.: Molekularbiologische Arbeiten an Rosaceen. Universität Kiel, 13.07.1994, Kiel
- DEBENER, TH.; RIEMER, E.: Molekulargenetische und funktionelle Analyse von Resistenzgenen in Arabidopsis. "Molekularbiologie der Pflanzen", 02.-05.03.1994, Wernigerode
- DUNEMANN, F.: Entwicklung und Einsatz molekularer Marker in der Apfelzüchtung. Genetisch-züchterisches Seminar der Institutes für Pflanzenzüchtung und Saatgutwirtschaft der Martin-Luther-Universität Halle, 22.06.1994, Halle
- DUNEMANN, F.: Molekulare Marker in der Obstzüchtung. Zellbiologisches Seminar des Institutes für Biologie der Medizinischen Universität Lübeck, 18.01.1994, Lübeck
- DUNEMANN, F.: Progress in apple genome mapping. Development of the European Apple Crop - 2nd Coordination Meeting, 10.-13.04.1994, Naoussa, Griechenland
- DUNEMANN, F.; KAHNAU, R.; SCHMIDT, H.: Genetic relationships in *Malus* evaluated by RAPD fingerprinting of cultivars and wild species. Molekularbiologie der Pflanzen, 02.-05.03.1994, Wernigerode
- GRUNEWALDT, J.: Aufgaben des Instituts für Zierpflanzenzüchtung in Ahrensburg der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen. 6. Hauptausschußsitzung des Bundesverbandes Zierpflanzen, 02.03.1994, Kevelaer
- GRUNEWALDT, J.: Aufgaben der Abteilung Zierpflanzen des Blaue Liste Institutes Erfurt-Kühnhausen. Verabschiedung von Dr. R. Reiser, Institut für Gemüse- und Zierpflanzenbau Großbeeren/Erfurt e.V., Abt. Zierpflanzen, 04.07.1994, Erfurt-Kühnhausen

- GRUNEWALDT, J.: Gentechnologie - Entwicklungen für Pflanzenzüchtung und Produktion. ZVG Bundesfortbildungsveranstaltung für Lehrerinnen und Lehrer an Gartenbaulichen Berufsschulen, 28.-30.10.1994, Grünberg
- KOCH, K.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Extracellular proteins in embryogenic and non-embryogenic suspension cultures of *Euphorbia pulcherrima*. VIII. Int. IAPTC Congress, 13.-18.06.1994, Florenz, Italien
- KOCH, K.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Extracelluläre Proteine und Glycoproteine in embryogenen und nicht-embryogenen Suspensionskulturen. Tagung ADIVK Arbeitsgruppe "Somatische Embryogenese", 24.-25.01.1994, Uni Gießen
- KOCH, K.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Untersuchungen zur Konditionierung des Kulturmediums von embryogenen und nicht-embryogenen Suspensionskulturen von *Euphorbia pulcherrima*. IAPTC Tagung, 03.-05.03.1994, Hannover
- MARKUSSEN, T.; DUNEMANN, F.: Entwicklung molekularer Marker für die Resistenzzüchtung beim Apfel. AG Molekulare Marker der GPZ, 15.-16.09.1994, Gatersleben
- PREIL, W.: Somatische Embryogenese und Pflanzenproduktion. Ges. für Pflanzenzüchtung, AG Zierpflanzen, 25.-26.07.1994, Hann. Münden
- PREIL, W.; WEBER, J.; MEIER, K.: Recent results on liquid culture of Clematis and Anthurium for mass propagation purposes. EC-Meeting of COST 822 Working Group "Regeneration in Suspension Culture", 01.-04.12.1994, Aas, Norwegen
- RIEMER, E.; DEBENER, TH.: 'Functional and genetic characterization of resistance genes in Arabidopsis' DFG Schwerpunkt 'Molekulare Phytopathologie', 28.-20.03.1994, Bad Godesberg
- SCHMIDT, H.: 1. Resistenzzüchtung beim Apfel. 2. Vorstellung der Ergebnisse des Ahrensburger Apfelzüchtungsprogramms. Fortbildungsveranstaltung des "Bundes Südtiroler Baumschulen", 21.02.1994, Terlan, Südtirol
- SCHMIDT, H.: Screening for scab and mildew in 1993 at Institut für Zierpflanzenzüchtung. Jahrestreffen der Teilnehmer am EG-Projekt 'CT920473 Development of the European Apple Crop', 11.-13.04.1994, Naoussa, Griechenland
- SCHMIDT, H.: 1. Kirschunterlagenzüchtung in Ahrensburg. 2. Acht Jahre Süßkirschzüchtung in Ahrensburg. Arbeitskreis Steinobst der Fachgruppe Obstbau, 05.-06.07.1994, Dresden-Pillnitz
- SCHMIDT, H.: Aspekte der Süßkirschzüchtung. Arbeitsgruppe Pflanzenzüchtung "Gehölze", 26.-27.05.1994, Berlin
- SCHUM, A.: In vitro Kulturen zur Unterstützung der Entwicklung von F1-Hybridsorten bei *Allium porrum*. Arbeitsgruppe "In-vitro-Züchtung" des Arbeitskreises Deutsche in vitro Kulturen, 05.-06.05.1994, Geisenheim
- SCHUM, A.: Pflanzenregeneration aus isolierten Protoplasten von *Allium porrum*. 4. Tagung der deutschen Sektion der IAPTC, 03.-05.03.1994, Hannover
- SCHUM, A.; STÖLDT, A.: Protoplasts and Dihaploids as Tools in Leek Breeding. VIII International Congress on Plant Tissue and Cell Culture, 12.-17.06.1994, Florenz, Italien
- STÖLDT, A.; SCHUM, A.: In vitro Polyploidisierung von dihaploidem *Allium porrum* L. 4. Tagung der deutschen Sektion der IAPTC, 03.-05.03.1994, Hannover
- STROLKA, B.: Somatische Embryogenese aus Langzeitsuspensionskulturen von *Cucumis sativus* L. Treffen der AG "Somatische Embryogenese" des ADIVK, 24.-25.01.1994, Gießen
- STROLKA, B.: Influence of NH_4^+ and NO_3^- on somatic embryogenesis from long-term suspension cultures of *Cucumis sativus* L. VIII. Int. IAPTC Congress, 13.-18.06.1994, Florenz, Italien

- STROLKA, B.; GRUNEWALDT, J.: Einfluß von NH_4^+ und NO_3^- auf die somatische Embryogenese aus Langzeitsuspensionskulturen von *Cucumis sativus* L. IAPTC Tagung, 03.-05.03.1994, Hannover
- WEBER, J.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Somatic embryogenesis in bioreactor culture of *Clematis tangutica*. VIII. Int. IAPTC Congress, 13.-18.6.1994, Florenz, Italien
- WEBER, J.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Bioreaktor-Kultur von *Clematis tangutica*: Nährstoffaufnahme von embryogenen Suspensionskulturen. IAPTC Tagung, 03.-05.03.1994 Hannover
- WEBER, J.; PREIL, W.; LIEBEREI, R.: Vergleich von embryogenen Suspensionskulturen im Bioreaktor und Erlenmeyerkolben am Beispiel von *Clematis tangutica*. Tagung ADIVK Arbeitsgruppe "Somatische Embryogenese", 24.-25.01.1994, Uni Gießen
- WINKELMANN, T.: Analyse von Pflanzen aus Protoplastenkultur von *Saintpaulia ionantha* (H. WENDL.). IAPTC Tagung, 03.-05.03.1994, Hannover
- WINKELMANN, T.; GRUNEWALDT, J.: Protoplast Culture in *Saintpaulia ionantha* and *Episcia cupreata* with the aim of somatic hybridization. VIIIth Internat. Congr. of Plant Tissue and Cell Culture, 12.-17.06.1994, Florenz, Italien
- SCHNEIDER, J.; SCHEEWE, P.; SCHICKEDANZ, F.: Einfluß der Inokulationsmethode auf den Befall von Erdbeerwurzeln mit *Phytophthora fragariae*. Arbeitskreis Mykologie der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft, 17.-18.03.1994, Stuttgart-Hohenheim

Institut für Resistenzforschung Aschersleben

- BARCHEND, G.; SCHUBERT, J.: Vergleichende Untersuchungen zur Transformationseffizienz von Kartoffeln mit verschiedenen Konstrukten des Hüllproteingens des Kartoffel-Y-Virus (PVY). 49. Dt. Pflanzenschutztagung, Heidelberg, 1994
- EHRIG, F.; KRIEGHOFF, O.: Morphologische Untersuchungen des Infektionsverlaufes im pathosystem *Podosphaera leucotricha*-Apfel an Pflanzen mit unterschiedlichem Resistenzgrad. Vortragsveranstaltung "Neue Aspekte der Resistenzforschung" 25.10.1994, BAZ, Standort Aschersleben
- EHRIG, F.; RICHTER, K.: Untersuchungen zu Abwehrmechanismen bei Obstgehölzen gegen Ausbreitung phytopathogener Bakterien am Beispiel des Feuerbrandes. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 354-356
- EISBEIN, K.; EHRIG, F.; GRIESBACH, E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Samenübertragung von *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* bei Tomate. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, Heidelberg, 26.-29.09.1994
- KASTIRR, U.; EHRIG, F.; SCHÜTZE, U.: Untersuchungen zum Auftreten von *Mastigosporium* spp. am Knautgras. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg, Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 300-302
- KASTIRR, U.; SCHÜTZE, U.; EHRIG, F.; SCHUBERT, J.; PROCHNOW, J.: Untersuchungen zum Auftreten von *Mastigosporium*-Arten und zur Resistenzselektion gegenüber *Mastigosporium muticum* am Knautgras. Vortragsveranstaltung: "Neue Aspekte der Resistenzforschung", 25.10.1994, BAZ, Standort Aschersleben
- KASTIRR, U.; SCHÜTZE, U.; EHRIG, F.; SCHUBERT, J.; PROCHNOW, J.: Untersuchungen zum Auftreten von *Mastigosporium*-Arten und zur Resistenzselektion gegenüber *Mastigosporium muticum* am Knautgras. GFP - Jahrestagung, Abteilung Futterpflanzen, 03.11.1994, Bonn

- KASTIRR, U.: *Rhynchosporium*-Blattfleckenerkrankung an Gräsern - konzeptionelle Vorschläge zur Untersuchung des Anfälligkeitsverhaltens an Weidelgräsern. GFP - Jahrestagung, Abteilung Futterpflanzen, 03.11.1994, Bonn
- KÜHNE, TH.; TIMPE, U.; PROESELER, G.: Barley mild mosaic virus - a causal agent of the yellow mosaic disease of winter barley. Intern. Conference " Fundamental and applied problems in phyto-virology", Jalta 1994
- NACHTIGALL, M.: Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Weizen nach Befall mit Xanthomonaden aus der " *translucens*-Gruppe ". Tagung des Arbeitskreises Phytobakteriologie der Deutschen Phyto- medizinischen Gesellschaft vom 01.-02.09.1994 in Mainz
- KOPAHNKE, D.; NACHTIGALL, M.; WOLF, G.A.: Ermittlung von Enzymaktivitäten - Eine Möglichkeit zur Resistenzbewertung von Sommergersten gegenüber *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 1994, Heidelberg
- NACHTIGALL, M.; KOPAHNKE, D.; WOLF, G. A.: Produktion extrazellulärer Polysaccharid-abbauender Enzyme bei *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. *in vitro* und *in vivo*. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg
- PFEILSTETTER, E.; BURGERMEISTER, W.; LESEMANN, D.-E.; KASTIRR, U.: Ultrastrukturelle Untersuchungen zur Übertragung von Zuckerrübenviren (BNYVV, BSBV) durch *Polymyxa betae*. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 1994, Heidelberg
- REISS, E.: "PR-Proteine der Gerste nach Infektion mit *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem." 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg; Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 92-93
- REISS, E.; BRYNGELSSON, T.: PR-Proteine der Gerste nach Infektion mit *Drechslera teres* (Sacc.) Shoem. und nach Behandlung mit verschiedenen Stressoren" Mitt. a. d. Biol. Bundesanst. **301**, 1994, 248
- SCHUBERT, J., NIELITZ, M.: Klonierung und Sequenzierung des 3'-Endes der RNA eines Virus aus Porree. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, Heidelberg, 1994
- SCHUBERT, J.; SCHLEGEL, H.; BARCHEND, G.: Untersuchungen zur Transformationseffizienz von Kartoffeln mit einem PVY Hüllproteingen-Konstrukt. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg
- TIMPE, U.; KÜHNE TH.: Vergleich einer vollständigen Form mit verkürzten Formen der RNA 2 des barley mild mosaic virus (BaMMV). 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 1994, Heidelberg
- TIMPE, U.; KÜHNE, TH.: Vergleich verkürzter und vollständiger Formen der RNA 2 des barley mild mosaic bymovirus. Arbeitskreis "Viruskrankheiten der Pflanzen" Braunschweig 1994

Institut für Pathodiagnostik Aschersleben

- GABLER, J.: Detection of *Phytophthora nicotianae* in *Nicotiana* spp. by indirect ELISA- first results. EPPO Conference on New Methods of Diagnosis in Plant Protection, 25.01.-28.01.1994, Wageningen, NL
- GRAICHEN, K.; RABENSTEIN, F.: Differenzierung der an Raps (*Brassica napus* L.) und Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) auftretenden Luteoviren. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- KRÄMER, I.: Charakterisierung und Differenzierung von *Xanthomonas campestris*-Pathovaren mittels PCR. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26.09.-29.09.1994, Heidelberg
- KRÄMER, I.; GRIESBACH, E.: Use of ELISA for detection of *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis* in tomato. EPPO Conference on New Methods of Diagnosis in Plant Protection, 25.01.-28.01.1994, Wageningen, Niederlande

- LESEMANN, D.-E.; HUTH, W.; RABENSTEIN, F.: Serologische und zytologische Klassifizierung der Gramineen infizierenden durch Milben übertragbaren Potyviridae. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- NAUMANN, K.: Bakterielle Naßfäule-Erreger, Entstehung und Aussichten für eine erfolgversprechende Resistenzzüchtung. Wiss. Kolloquium anlässlich der Emeritierung von Prof. Dr. R. HEITEFUß am 03.03.1994 im Institut für Pflanzenpathologie und Pflanzenschutz der Universität Göttingen
- NAUMANN, K.: Nachweis und Identifizierung von Krankheitserregern an Kulturpflanzen am Beispiel pflanzenpathogener Bakterien. Kolloquium am 09.06.1994 am Julius-von Sachs-Institut für Biowissenschaften der Universität Würzburg
- NAUMANN, K.: Die Erkennung von Krankheitsursachen - eine vordringliche Aufgabe für die Diagnostik und Resistenzzüchtung (dargestellt am Beispiel bakterieller Pflanzenkrankheiten). Gemeinschaft der Förderer und Freunde der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen e.V. Aschersleben, am 23.06.1994
- NAUMANN, K.: Untersuchungen zum Resistenzverhalten von Buschbohnen gegenüber *Pseudomonas syringae* pv. *phaseolicola*. Deutsche Phytomedizinische Gesellschaft, Arbeitskreis "Phytobakteriologie", Mainz, 01.09.1994
- NAUMANN, K.: Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants - Structure and Goals. Institute of Vegetable and Flowers der Chines. Akademie der Wissenschaften Peking 07.10.1994 und Agricultural University Nanking, Dept.of Plant Pathology 12.10. 1994
- NAUMANN, K.: Diagnosis and Identification Methods in the Phytobacteriology. Institute of Vegetable and Flowers der Chines. Akademie der Wissenschaften Peking 07.10.1994 und Agricultural University Nanking, Dept.of Plant Pathology 12.10.1994
- NAUMANN, K.: The Importance of Bacterial Soft Rots and the Chances for a Successful Resistance Breeding. Institute of Vegetable and Flowers der Chines. Akademie der Wissenschaften Peking 07.10.1994 und Agricultural University Nanking, Dept.of Plant Pathology 12.10.1994
- NAUMANN, K.: Bakterielle Naßfäulen - Erreger, Übertragung und Möglichkeiten der Bekämpfung. BAZ Aschersleben, 2. Vortragsveranstaltung zum Thema "Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen", am 26.10.1994
- NAUMANN, K.; KRÄMER, I.; RABENSTEIN, F.: Development of diagnostic methods for plant pathogenic bacteria. XIII. Czech and Slovak Plant Protection Conference, 13.09. 1994, Prague, Tschech. Republik
- PROLL, E.: Tissue print immunoblotting (TPI) - eine empfindliche Schnellmethode zum qualitativen Nachweis des rye grass mosaic virus (RgMV) in Gramineen. Sommertagung der GFP - Abteilung Futterpflanzen, 07.06.-08.06.1994, Bücken
- PROLL, E.; LEISTNER, H.-U.; KRÄMER, R.: Nachweis und Differenzierung von turnip mosaic virus-Isolaten mit biologischen, serologischen und molekularbiologischen Methoden. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26.-29.10.1994, Heidelberg (Poster)
- RABENSTEIN, F.: Ergebnisse der Forschungsprojekte Immundiagnostik. Vortragsveranstaltung der BAZ, am 27.03.1994, Aschersleben
- RABENSTEIN, F.: Anwendung von Immunoassays in der Krankheitsdiagnostik und Resistenzbewertung. 2. Vortragsveranstaltung zum Thema "Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen", am 25.10.1994, Aschersleben
- RABENSTEIN, F.; PROLL, E.: Monoklonale Antikörper gegen das Ryegrass Mosaic Virus. DPG Arbeitskreistagung "Viruskrankheiten der Pflanzen", 05.-06.09.1994, Braunschweig
- RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; PROESELER, G.; LELLBACH, H.: Entwicklung von Enzymimmunoassays zur Bewertung der Resistenz gegen das ryegrass mosaic virus. 2. GPZ-Tagung, 02.- 04.03.1994, Quedlinburg

- RABENSTEIN, F.; ZIELKE, R.; NAUMANN, K.: Nachweis von *Xanthomonas campestris* pv. *pelargonii* mit polyklonalen Antisera und monoklonalen Antikörpern. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- ZIELKE, R.; NAUMANN, K.: Untersuchungen zum serologischen Nachweis der Bakteriellen Schleimfäule, *Pseudomonas solanacearum* (Smith) Smith, an Kartoffeln. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 27.09.1994, Heidelberg

Institut für Epidemiologie und Resistenz Aschersleben

- EHRIG, F.; RICHTER, K.: Untersuchungen zu Abwehrmechanismen bei Obstgehölzen gegen die Ausbreitung phytopathogener Bakterien am Beispiel des Feuerbrandes. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- EISBEIN, K.; GRIESBACH, E.: Induktion einer Resistenz durch Prämunisierung im System Tomate/ *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* (Cmm). 15. Tagung AK "Phytobakteriologie" der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft, 01.-02.09.1994, Mainz
- EISBEIN, K.; EHRIG, F.; GRIESBACH, E.: Elektronenmikroskopische Untersuchungen zur Samenübertragbarkeit von *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* bei Tomate. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- GEISSLER, K.: Anwendung und Bedeutung insektenpathogener Viren im integrierten Pflanzenschutz. 46. Internat. Pflanzenschutz-Symposium, 03.05.94, Gent, Belgien
- GEISSLER, K.: Eignung des Granulosevirus-Präparates "Granupom" des Apfelwicklers (*Cydia pomonella*) zur Bekämpfung des Erbsenwicklers (*Cydia nigricana* Steph.). 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- GRAICHEN, K.: Situation des Virusbefalls beim Winterraps und Möglichkeiten der Resistenzzüchtung. Kolloquium "Krankheiten und Resistenz bei Raps" bei der Norddeutschen Pflanzenzüchtung, 24.03.1994, Hohenlieth
- GRAICHEN, K.: Untersuchungen zur Erhöhung der Resistenz von Raps gegen das Wasserrübenvergilbungsvirus (Turnip Yellow Virus, TuYV). Gemeinsames Kolloquium der GFP und der GPZ anlässlich des 25jährigen Bestehens der GFP- Abteilung Öl- und Eiweißpflanzen, 09.-10.06.1994, Gatersleben
- GRAICHEN, K.: Quantitative und qualitative Resistenz in Winterraps und seinen Ausgangsformen gegenüber dem Turnip Yellow Luteovirus. Tagung des AK "Pflanzenvirologie" der Deutschen Phytomedizinischen Gesellschaft, 05.-06.09.94, Braunschweig
- GRAICHEN, K.: Differenzierung der beiden an Winterraps und Zuckerrüben auftretenden Vergilbungsviren. Rapssymposium zu Fragen der Phytopathologie und des Pflanzenschutzes, 13.-14.10.1994, Rostock
- GRAICHEN, K.; PETERKA, H.: Prüfung und Selektion von Raps (*Brassica napus*) und verwandten Arten auf Resistenz gegen das Beet Western Yellow Virus. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- GRAICHEN, K.; PETERKA, M.: Resistenz gegen das Beet Western Yellow Virus bei Raps (*Brassica napus*) und verwandten Arten. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- GRAICHEN, K.; PETERKA, M.: Resistenz von Winterraps (*Brassica napus* ssp. *napus*) und seinen Ausgangsformen gegenüber dem Beet Western Yellow Virus (BWYV). Rapssymposium zu Fragen der Phytopathologie und des Pflanzenschutzes, 13.-14.10.1994, Rostock
- GRAICHEN, K.; RABENSTEIN, F.: Differenzierung der zwei an Raps (*Brassica napus* L.) und Zuckerrübe (*Beta vulgaris* L.) auftretenden Luteo-Viren. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- GRIESBACH, E.: Paprika-Bakteriosen. Natürliches Auftreten sowie ihre Entwicklung nach künstlicher Inokulation. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg

- GRIESBACH, E.; EISBEIN, K.: Epidemiologische und ultrastrukturelle Untersuchungen zur Aufklärung der Resistenzinduktion durch Prämünisierung von Pflanzen. DFG-Schwerpunktthema, 15.-16.06.1994, Bonn
- GRIESBACH, E.; EISBEIN, K.; KRÄMER, I.: Resistenzinduktion gegen bakterielle Erreger im Wirt/Pathogen-System Tomate/*Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* durch Prämünisierung. 2. Vortragsveranstaltung "Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen", 25.10.1994, Aschersleben
- GRIESBACH, E.; NAUMANN, K.: Durch Saatgut übertragbare Gemüsebakteriosen einschließlich Möglichkeiten zu der Nachweis und Bekämpfung. AG Saatgut und Sortenwesen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaft, 14.-15.04.1994, Monheim
- HABEKUSS, A.: Ergebnisse der Untersuchungen zur BYDV-Toleranz von Wintergerste in Aschersleben. 6. Tagung der AG "Getreideschädlinge" der DPG, 08./09.02.1994, Braunschweig
- HABEKUSS, A.: Evaluation of winter barley for resistance to barley yellow dwarf virus. First International Seminar, Cereal-Pathogens and Stress Factors Progress to Ecological Agriculture, 13.-15.09.1994, Poznan, Polen
- HABEKUSS, A.; PROESELER, G.: Virusresistenz im Wintergerstensortiment der Genbank Gatersleben 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- HABEKUSS, A.; PROESELER, G.: Virusresistenz im Wintergerstensortiment der Genbank, Gatersleben. 2. Vortragsveranstaltung "Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen", 25.10.1994, Aschersleben
- HUTH, W.; GÖTZ, R.; LESEMANN, D.-E.; MAISS, E.; PROESELER, G.; VETTEN, H.J.; SIGNORET, P.: Brome streak mosaic virus - ein bisher übersehenes Virus des Getreides. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- KICHERER, W.; WALTHER, U.; JAHOR, A.; FISCHBECK, G.: Versuche zur Charakterisierung und Markierung von Gerstenpopulationen bezüglich ihrer Resistenz gegen Zwergrost. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- KRÄMER, I.; GRIESBACH, E.: Use of ELISA for detection of *Clavibacter michiganensis* ssp. *michiganensis* in tomato. EPPO-Tagung "New Methods of Diagnosis in Plant Protection", 25.-28.01.1994, Wageningen, Niederlande
- MICHEL, M.; PROESELER, G.; SCHOLZ, M.; PICKERING, R.; MELZ, G.: Transfer von *H. bulbosum*-Genen in die Kulturgerste. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- MÜLLER, D.; WALTHER, U.; WOLF, G.: Eignung eines Enzymtests zur Differenzierung von Sommergersten mit unterschiedlichem Niveau quantitativer Zwergrostresistenz. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- PROESELER, G.: Prospects for continued virlogical collaboration between Kostinbrod and Aschersleben. Internat Conf. Plant Virol., 19.-23.09.1994, Apriltsi, Bulgarien
- RABENSTEIN, F.; PROLL, E.; PROESELER, G.; LELLBACH, H.: Entwicklung von Enzymimmunosassays zur Bewertung von Resistenz gegen das ryegrass mosaic virus. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- RICHTER, K.: Darstellung der Symptomentwicklung bei Pflanzenkrankheiten am Beispiel des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*). Tagung des Arbeitskreises "Phytopathologie" der DP, 01.-02. 09.1994, Mainz
- RICHTER, K.: Darstellung der Krankheitsentwicklung bei Pflanzenkrankheiten am Beispiel des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*). 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- RICHTER, K.: Darstellung des Krankheitsverlaufs am Beispiel des Feuerbrandes (*Erwinia amylovora*). 2. Vortragsveranstaltung "Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen", 25.10.1994, Aschersleben

- RICHTER, K.: Aktuelles zum Feuerbrand. Pillnitzer Obstbautage, 30.11.1994, Dresden-Pillnitz
- SCHREIBER, H.; HABEKUSS, A.: Somatic intralocus recombination and changed gene expression take place synchronously at several loci in barley (*Hordeum vulgare* L.). Jahrestagung der Gesellschaft für Genetik, 08.-10.09.1994, Göttingen
- WALTHER, U.: Characterization of resistance of barley to yellow rust - pattern of resistance reaction and genetic basis of resistance of selected barley genotypes and cultivars. Montana State University Bozeman (Montana), 01.02.1994; "Small Grain" Genebank Aberdeen (Idaho), 03.02.1994; Colorado State University Fort Collins (Colorado), 04.02.1994; Agricultural Resources, Research Department of BUSCH-Brewery, 05.02.1994; Cereal Rust Laboratory University of Minnesota, St. Paul (Minnesota), 14.02.1994
- WALTHER, U.: Die Populationsdynamik von *Puccinia hordei* Oth und ihre Beeinflussung durch biotische und abiotische Faktoren anhand der Ergebnisse langjähriger und großräumiger Virulenzgenüberwachung. 2. GPZ-Tagung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- WALTHER, U.: Development of pathogen populations of *Puccinia hordei* Oth in Germany (1974-1994) and in the neighbouring countries (since 1992) under consideration of biotic and abiotic influences. Workshop "Airborne pathogen populations" im Rahmen des COST-Projektes 817, 05.-09.11.1994, Zürich (Schweiz)

Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz

- BLANKE, M.; HÖFER, M.: Morphologische Veränderungen von tetraploiden Apfelblättern in Gewebekultur. Deutsche Gartenbauwissenschaftliche Gesellschaft e.V. 31. Wissenschaftliche Arbeitstagung, 16.-18.03.1994, Stuttgart-Hohenheim
- FISCHER, C.: Ergebnisse beim Anbau schorf- und mehlttauresistenter Apfelsorten. 4. Werdersche Obstbautage, 31.01.-02.02.1994, Netzen
- FISCHER, C.: Bewertung Pillnitzer Apfelneuzüchtungen. Arbeitskreis "Apfelanbau - Sortimentsentwicklung, Anbausysteme", 04.02.1994, Dresden-Pillnitz
- FISCHER, C.: Entwicklung des Apfelsortimentes zu schorf- und mehlttauwiderstandsfähigeren Apfelsorten. Steirische Obstbautage 1994, 07.-08.02.1994, Haidegg, Österreich
- FISCHER, C.: Ergebnisse der Pillnitzer "Pi-" und "Re-Sorten". OGA-Symposium; 04.-05.03.1994, Friedrichshafen
- FISCHER, C.: Ermittlung von Donoren für Mehrfachresistenz als Grundlage für die Züchtung von mehrfach-resistenten Apfelsorten für den integrierten Anbau. Festakt der Rudolf-Hermanns-Stiftung 1994, 08.07.1994, Geisenheim
- FISCHER, C.: Aktuelle Ergebnisse aus der Pillnitzer Apfelzüchtung. 2. Pillnitzer Apfelsortentag, 10.09.1994, Dresden-Pillnitz
- FISCHER, C.: Zehnjährige Ergebnisse von Leistungsprüfungen mit neuen Pillnitzer Apfelsorten und Zuchtstämmen. Arbeitskreis "Obstbauliche Leistungsprüfungen", 14.09.1994, Wurzen
- FISCHER, C.: Zukunftsorientierte Züchtungsversuche im Hinblick auf resistente Apfelsorten. Eröffnung der Deutschen Apfelsaison 1994/95, Centrale Marketing-Gesellschaft der Deutschen Agrarwirtschaft MBH, 15.09.1994, Dresden
- FISCHER, C.: Stand der Resistenzzüchtung beim Apfel in Dresden-Pillnitz unter besonderer Berücksichtigung auf die Resistenz gegenüber Feuerbrand, Bundesfachausschuß Obst, Bundesarbeitstagung 19.10.1994, Grünberg

- FISCHER, C.: Züchtung auf Qualität in der Pillnitzer Apfelzüchtung bei Pi- und Re-Sorten. Symposium ARGE POLDI, 26.-27.10.1994, Lednice, Tschechien
- FISCHER, C.: Apfelzüchtung im Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz der BAZ. Sächsisches Staatsministerium für Landwirtschaft, Ernährung und Forsten, Sächsische Apfeltage, 03.-04.11.1994, Dresden
- FISCHER, C.: Stand der Obstzüchtung in Dresden-Pillnitz. Bundesfachausschuß Obst, Delegiertenkonferenz der Fachgruppe Obstbau, 22.11.1994, Bonn
- FISCHER, C.; FISCHER, M.: Results in Breeding Multiple Resistant high Quality Apples at Dresden-Pillnitz. XXIVth International Horticultural Congress, 21.-28.08.1994, Kyoto, Japan
- FISCHER, M.; FISCHER, C.: Genetic diversity of Pillnitz apple breeding. Symposium ARGE POLDI, 26.-27.10.1994, Lednice, Tschechien
- HANKE, V.: Erfahrungen zur In-vitro-Langzeitlagerung bei Obstarten. Arbeitskreis Deutscher In-vitro-Kulturen, Vortrag zur Tagung der Arbeitsgruppe 'Langzeitlagerung'; 28.04.1994, Dresden-Pillnitz
- HANKE, V.; HÖFER, M.; KRIEGHOFF, O.: Biotechnologie in der Neuzüchtung beim Obst - Stand und Perspektiven. Kolloquium Freie Universität Berlin, Institut für Angewandte Genetik, 28.02.1994, Berlin
- HANKE, V.: Manipuliertes Leben - Stand und Entwicklung der Gentechnik unter ethischer Bewertung. Teil: Gentechnik in der Pflanzenzüchtung. Podiumsdiskussion im Politisch-sozialen Bildungswerk - Christen für Europa e.V.; 17.05.1994, Dresden
- KRIEGHOFF, O.; HANKE, V.: Entwicklung einer Methode zur In-vitro-Selektion auf Resistenz gegen Apfelmehltau *Podosphaera leucotricha* (Ell. et Ev.)Salm. 49. Deutsche Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- RICHTER, K.; FISCHER, C.: Feuerbrandresistenz bei Obst- und Ziergehölzen. Gesellschaft für Pflanzenzüchtung AG Gehölze, 26.-27.05.1994, Berlin
- SCHREIBER, H.; BÜTTNER, R.; DATHE, B.; FISCHER, C.; FISCHER, M.; HAASE, I.; HANKE, V.; KRIEGHOFF, O.; RHODE, W.: The extent of molecular polymorphism within a collection of apple (*Malus* species) germplasm detected by RAPD analysis. 4th International Congress of Plant Molecular Biology, 19.-24.06.1994, Amsterdam
- SCHUSTER, M.: Karyologische Untersuchungsmethoden bei Obst. Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, AG "Gehölze", 26.-27.05.1994, Berlin
- SCHUBERT, V.; BLÜTHNER, W.D.; JUNGHANS, W.; OERTEL, C.; SCHUSTER, M.: Agronomische Leistung Hohenthurmer Weizenlinien mit Resistenz gegenüber Echtem Mehltau. 2.Tagung Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- WOLFRAM, B.: Das Pillnitzer Süßkirschensortiment - Züchtungsarbeit und Befruchtungsbio-logie. Veranstaltung des Vereins der Fachschulabsolventen der Obstbauschule Jork; 31.01.1994, Jork
- WOLFRAM, B.: Ergebnisse der Pillnitzer Kirschenunterlagenzüchtung unter besonderer Berücksichtigung von Kreuzungsnachkommen mit *Prunus canescens* Bois. als Kreuzungselter. Tagung Gesellschaft für Pflanzenzüchtung; 26.-27.05.1994, Berlin Köpenick
- WOLFRAM, B.: Kirschenzüchtung in Pillnitz. Tagung des Arbeitskreises Steinobst der Fachgruppe Obstbau im Bundesausschuß Obst und Gemüse; 05.-06.07.1994, Dresden-Pillnitz
- WOLFRAM, B.: Vorstellung von Süßkirschensorten und Unterlagen aus Dresden-Pillnitz. Anwenderseminar 08.07.1994, Münchenberg
- WOLFRAM, B.: Steinobstzüchtung aus ostdeutscher Sicht. 20. Steinobst-Seminar; 08.12.1994, Ahrweiler

Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

- DARSOW, U.; SCHILDE-RENTSCHLER, L.; RUOSS, B.; NINNEMANN, H.: Resistenz von Fusionaten zwischen dihaploidem *Solanum bulbocastanum tuberosum* und dihaploidem *Solanum tuberosum* gegenüber *Phytophthora infestans*. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg. Vorträge für Pflanzenzüchtung **28**, 1994, 214-216
- HERRMANN, M.: Selektion von Hafer- und Triticale-Basismaterial. Standort-Kolloquium am 28.07.1994, BAZ Groß Lüsewitz
- RUDLOFF, E.; GERATH, H.: Entwicklung von Winterraps-Genotypen mit hohem Erucasäuregehalt für die industrielle Nutzung. Abschlußbericht zum Projekt Nr. ÖE 71/91 AIF. Jahrestagung GFP 03.-04.11.1994, Bonn
- SONNTAG, K.; THIEME, R.; TIEMANN, H.: Somatische Hybridisierung dihaploider Klone durch Protoplastenfusion. Tagung der deutschen Sektion der IAPTC, Programm & Abstracts, 03.-05.03.1994, Hannover
- SONNTAG, K.; THIEME, R.; TIEMANN, H.: Somatic hybridisation of dihaploid clones from *Solanum tuberosum* by protoplast fusion. Abstracts VIIIth International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, Firenze, June 12-17, 1994, 103
- SONNTAG, K.: In-vitro-Techniken und In-vitro-Propagation. Botanisches Institut und Botanischer Garten, Fachrichtung Biologie, EMU Greifswald, 04.06.1994
- TIEMANN, H.: Qualitätskriterien bei Kartoffeln für den Frischverzehr und züchterische Aufgaben. 44. Tagung der 'Arbeitsgemeinschaft der Saatzuchtler' in Gumpenstein (1993), 191-192
- TIEMANN, H.: Selektion von 2x-Kartoffelgenotypen auf Chips- bzw. Pommes frites-Qualität während mehrmonatiger Lagerung bei 4 °C. 16. Kartoffel-Tagung 1994 in Detmold

Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

- EFFMERT, B.: Untersuchungen zur Nährstoffeffizienz der Kartoffel; Wintertagung der Arbeitsgemeinschaft für Kartoffelzüchtung, Göttingen 17.-18.11.1994
- EFFMERT, B.; FLAMME, W.: Die Nährstoffeffizienz des Kaliums bei Kartoffel; 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994
- GERATH, H.: Aktuelle Fragen der Rapsdüngung; Veranstalter: Rapstagung in Mecklenburg-Vorpommern; 09.06.1994
- GERATH, H.: Methodische Arbeiten zur Erfassung und Verbesserung der Stickstoffeffizienz bei Winterraps; Klimakonferenz Braunschweig 06.-08.12.1994
- LELLBACH, H.: Erarbeitung von Selektionsmethoden und -modellen für Kronenrostresistenz bei *Lolium*-Arten; GFP-Sommertagung 07.-08.06.1994 in Bücken
- LELLBACH, H.: Erste Ergebnisse über Kronenrost-Resistenzprüfungen bei *Lolium perenne*; Kolloquium am 22.09.1994 in Groß Lüsewitz
- LELLBACH, H.: Blattstückentest zur Beurteilung der Resistenz gegen Kronenrost (*Puccinia coronata*) bei *Lolium sp.*; 36. Fachtagung DLG Fachausschuß; Gräser, Klee und Zwischenfrüchte; 07.-08.12.1994 in Fulda

MICHEL, M.; G. PROESELER; M. SCHOLZ; R. PICKERING; G. MELZ: Transfer von *H. bulbosum*-Genen in die Kulturgerste; 2. GPZ - Tagung, 02.-05.03.1994

RUDLOFF, E.; GERATH, H.: Entwicklung von Winterraps-Genotypen mit hohem Erucasäuregehalt für die industrielle Nutzung und von Zuchtmaterial mit hoher Nährstoffeffizienz, insbesondere Stickstoff-effizienz; Veranstalter: GFP - Herbsttagung, 03.-04.11.1994, Bonn

SCHOLZ, M.: "Evaluierung und Analyse genetischer Ressourcen für Braunrostresistenz bei Roggen"; GFP-Jahrestagung, Bonn, 03.11.1994

Institut für Streßphysiologie und Rohstoffqualität Groß Lüsewitz

BALKO, C.; SEDDIG, S.; JÜRGENS, H.-U.: Beziehungen zwischen morphologisch-anatomischen sowie biochemischen Parametern unter Trockenstreß in verschiedenen Entwicklungsstadien der Kartoffel. Statusseminar Klimawirkungsforschung im Geschäftsbereich des BML, 06.-08.12.1994, Braunschweig

FLAMME, W.; BIELKA, S.; JANSEN, G.: Züchtungsrelevante Methoden zur Bestimmung der Inhaltsstoffe und Eigenschaften von Stärkepflanzen. 45. Stärketagung, 20.4.-22.04.1994, Detmold

FLAMME, W.: Methodenentwicklung zur Erbsenstärkebeurteilung. Zielstellungen des Getreidestärke verbundprojektes. Vor- und Nachteile bei der Gewinnung und Verarbeitung der Stärken heimischer Nutzpflanzen. Diskussionsveranstaltung Getreide- und Erbsenstärken, 27.-29.04.1994, Groß Lüsewitz

FLAMME, W.; JÜRGENS, H.-U.; JANSEN, G.: Methods and results of starch investigation in plant breeding. Polysaccharid Symposium, 13.-16.07.1994, Guelph, Kanada

FLAMME, W.: Bearbeitung von züchtungsrelevanten biochemischen Methoden bei industriellen Verwertungseigenschaften von Roggen mit Schätzung genetischer Parameter und gleichzeitiger Erstellung von Ausgangsmaterial mit verbesserten Qualitätseigenschaften. GFP-Jahrestagung, 03.-04.11.1994, Bonn

JANSEN, G.: Züchtungsrelevante Methoden zur Charakterisierung der Getreidestärken. Diskussionsveranstaltung Getreide- und Erbsenstärken, 27.-29.04.1994, Groß Lüsewitz

FLAMME, W.: Methoden und Ergebnisse der Rohstoff- und Stärkeanalytik bei Mark- und Palerbsen. GFP-Tagung Öl- und Eiweißpflanzen, 09.06.1994, Gatersleben

JANSEN, G.; FLAMME, W.: Quantitative Bestimmung des Stärke-, Amylose- und Amylopektingehaltes von Erbsen mittels Hochdruckflüssigchromatographie und NIR-Spektroskopie. GFP-Jahrestagung, 03.-04.11.1994, Bonn

JÜRGENS, H.-U.; BALKO, C.: Entwicklung einer automatischen Bestimmungsmethode für Prolin in Wintergerste zur Beurteilung der Streßtoleranz von Zuchtmaterial auf Winterhärte. Statusseminar Klimawirkungsforschung im Geschäftsbereich des BML, 6.12.-08.12.1994, Braunschweig

SCHULZE, J.; BALKO, C.; ZELLNER, B.; KOPREK, T.; HÄNSCH, R.; NERLICH, A.; MENDEL, R.R.: Transformation von *Cucumis sativus* L. mittels Partikelkanone. IAPTC-Tagung, 03.-5.03.1994, Hannover

SCHULZE, J.; BALKO, C.; ZELLNER, B.; KOPREK, T.; HÄNSCH, R.; NERLICH, A.; MENDEL, R.R.: Regeneration and microprojectile-mediated transformation of *Cucumis sativus* L. using embryogenic suspension cultures. VIII. International Congress of Plant Tissue and Cell Culture, 12.-17.06.1994, Florenz, Italien

SCHULZE, J.; BALKO, C.; ZELLNER, B.; KOPREK, T.; HÄNSCH, R.; NERLICH, A.; MENDEL, R.R.: Production of Transgenic Cucumber Plants by Particle Bombardement. IV. International Congress of Plant Molecular Biology, 19.-24.06.1994, Amsterdam, Niederlande

- STELLING, D.; BALKO, C.; VON KITTLITZ, E.: Genotypische Variabilität in der Trockenheitstoleranz von Ackerbohnen, *Vicia faba* L.. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg
- TANTAU, H.; BRETTSCHEIDER, B.; BALKO, C.; JÜRGENS, H.-U.; MELZ, G.; DÖRFFLING, K.: In-vitro-selection and regeneration of winter barley (*Hordeum vulgare*, cv. Igri) with increased frost tolerance. Cost-workshop "Crop adaptation to cold climates", 13.-14.10.1994, Hamburg
- WEGENER, C.: Möglichkeiten eines schonenden enzymatischen Voraufschlusses von pflanzlichen Geweben in der industriellen Verarbeitung. Deutsche Gesellschaft für Qualitätsforschung, 21.-22.03.1994, Quedlinburg
- WEGENER, C.: Preferential degradation of middle lamellae by an *Erwinia* pectate lyase. 7th International Symposium on Molecular Plant-Microbe Interactions, 26.06.-01.07.1994, Edinburgh, Schottland

Institut für Resistenzgenetik

Grünbach

- ASSANI, A: Needs in potato quality in West-Africa. EAPR/EUCARPIA-workshop, 25.05.1994, Freising
- BAUER, E.: Grundlagen der Biotechnologie und Gentechnologie - Chancen, Risiken und ethische Bedenken. Versammlung des BBV (Lkrs. Starnberg), Dröbling, 11.01.1994
- BAUER, E.: Grundlagen der Gentechnologie. Staatliche Realschule, Erding, 09.02.1994
- Bauer, E.: Mapping of endogenous and introgressed disease resistance genes in barley. Research Institute for Crop Production, Prag, 17.11.1994
- FOROUGHI-WEHR, B.: Grundlagen der pflanzlichen Zellkultur (Einführungsseminar) Landwirtschaftliche Lehranstalten, Landsberg/L., 03.03.1994
- FOROUGHI-WEHR, B.: Biotechnologie und Gentechnologie in der Pflanzenzüchtung. Amt für Landwirtschaft, Erding, 11.05.1994
- FOROUGHI-WEHR, B.: Technischer Fortschritt am Beispiel von Biotechnik und Gentechnologie - verträglich das mit der bäuerlichen Landwirtschaft? Bildungsstätte Bayerischer Bauernverband, Hersching, 11.11.1994
- FREI, U.: Multifusions. EAPR/EUCARPIA-workshop, 26.05.1994, Freising
- GRANER, A.: Einführung in die angewandte Biotechnologie: DNA-Techniken. Landwirtschaftliche Lehranstalten, Landsberg, 10.03.1994
- GRANER, A.: A molecular view on the barley genome - implications for plant breeding and germplasm management. Vortragsveranstaltung anlässlich des 100-jährigen Bestehens des N.I. Vavilov Instituts, St. Petersburg, Russische Föderation, 11.08.1994
- GRANER, A.: Genome analysis in barley - basic and applied aspects. University of Guelph, Canada, 26.09.1994
- GRANER, A.: Genome analysis in barley - basic and applied aspects. Agriculture Canada, Winnipeg, Canada, 30.09.1994
- GRANER, A.: Molecular markers in barley - tools for breeders and geneticists. Molecular Genetics and Breeding of Barley in Scandinavia, Riso National Laboratory, Roskilde, Denmark, 31.10.1994
- GRANER, A.: Application of molecular markers in barley breeding - promises kept and pending. Pajbjergfonden, Odde, Denmark, 02.11.1994

- GRANER, A.: Genomanalyse bei der Gerste. Universität Kiel, 15.12.1994
- LÖSSL, A.; Frei, U.; Wenzel, G.: Nuclear-cytoplasmic interaction in somatic hybrids. EAPR/EUCARPIA-workshop, 26.05.1994, Freising
- STATTMANN, M.: Biotechnologie und ihre Anwendung in der Praxis. Realschule, Erding, 07.02.1994
- STATTMANN, M.: Unkonventionelle Züchtungsmethoden zur Qualitäts- und Resistenzsteigerung bei Solanumsorten. Institut für Phytopathologie. TU München, Freising-Weihenstephan, 19.07.1994
- WENZEL, G.: Ist Gentechnik zu vertreten? Dekanatsitzung der Evangelischen Kirche, 14.01.1994, Olching
- WENZEL, G.: Biotechnology in cereals. IRRISeminar on Biotechnology, 07.02.1994 Los Banos
- WENZEL, G.: Freisetzungsversuche mit gentechnisch veränderten Pflanzen. Jungbauernschaft, 10.03.1994, Donauwörth
- WENZEL, G.: Fusionshybriden der Kartoffel. BMFT-Fachtagung Biotechnologie und Pflanzenzüchtung. 20.04.1994, Bonn
- WENZEL, G.: Gentechnik (k)ein Teufelszeug? Gymnasium Vilsbiburg, 04.05.1994, Vilsbiburg
- WENZEL, G.: Selection and recombination for resistance via in vitro techniques and genetic analysis. Solanum workshop, 09.05.1994, Jakarta
- WENZEL, G.: Prerequisites for isolating a plant gene. BPP Teknologi, 11.05.1994, Jakarta
- WENZEL, G.: Gen- und Biotechnologie. Katholisches Bildungswerk, 17.05.1994 Velden
- WENZEL, G.: Fortschritte in der Pflanzenproduktion durch Einsatz der Gentechnik. Symposium Gentechnik in der Landwirtschaft, 18.05.1994, München
- WENZEL, G.: Kartoffelzüchtung - ein Spiegel biotechnischer Forschungsentwicklung. Symposium Kulturprägung durch Nahrung: Die Kartoffel, 08.06.1994, Freising
- WENZEL, G.: Gentechnik in der Pflanzenzüchtung. Fachhochschule Weihenstephan, 17.06.1994, Freising
- WENZEL, G.: Gentechnik in der Pflanzenzüchtung. Podiumsdiskussion BUND, 19.06.1994, Otterring
- WENZEL, G.: Activities in barley breeding at Grünbach and Weihenstephan. New Farm Crops, 07.07.1994, Cambridge
- WENZEL, G.: Wieviele Menschen könnte die Erde ernähren? Katholisches Bildungswerk, 27.09.1994, Nürnberg (Vortrag)
- WENZEL, G.: Gentechnik in der Landwirtschaft und Ernährung. Evangelische Landeskirche. 30.09.1994, München
- WENZEL, G.: Targets for tailored breeding. EBC Symposium, 15.11.1994, Andernach

Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung Quedlinburg

- DOROKHOV, D. B.; KLOCKE, E.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.; NEUMANN, M.: Use of RAPD-markers to analyse somatic hybrids between *Brassica oleracea* and *Sinapis alba*. International Symposium Plant Biotechnology and Genetic Engineering, 03.- 06.10.1994, Kiev

- KLOCKE, E.; RYSCHKA, U.; SCHUMANN, G.: Somaticheskaja gibridizacija mezhdou svetnoi kapustoi i raslichnimi vidami *Brassicaceae* putjom slijanija protoplastov i karakterizatsija regenerant-rastenii molekularnymi metodami. Wiss. Konferenz VNISSOK, 13./14.12.1994, Moskau
- NEUMANN, M.: Ausgewählte Probleme der Züchtungsforschung. Kolloquium an der Naturwiss. Fakultät, Bereich Pharmazie der Humboldt-Univ. Berlin, 11.10.1994, Berlin
- NEUMANN, M.; KLOCKE, E.: Breeding research - its basis and results in the Institute of Vegetable, Medicinal and Spice Plants as a part of the investigations in the Federal Centre for Breeding Research on Cultivated Plants. Wiss. Konferenz VNISSOK, 13./14.12.1994, Moskau
- NEUMANN; M.; SCHUMANN, G.: Problems and difficulties in the development of basic material - Crosses, incompatibility, fertility. Seminar der Deutschen Stiftung für internationale Entwicklung. "Seed Technology - Organization and Management of Seed Programmes", 07.07.1994, Quedlinburg
- SCHOLZE, P.: Anfälligkeitsdisposition und -manifestierung bei Alternarien und *Leptosphaeria* in progenerativen Stadien von Gemüsebrassicaceen. 49. Dt. Pflanzenschutztagung, 26.-29.09.1994, Heidelberg
- SCHOLZE, P.: Zur Resistenzproblematik bei Kohlhernie (*Plasmodiophora brassicae*). 2. Vortragsveranstaltung zum Thema 'Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen'. 25.10.1994, BAZ Aschersleben
- SCHUMANN, G.: Möglichkeiten und Grenzen der Nutzung somatischer Embryoide für die Erzeugung artifiziiellen Saatgutes. Workshop der Arbeitsgruppe "In-vitro-Züchtung" des ADIVK, 05.-06.05.1994, Geisenheim
- SCHUMANN, G.: Somatische Embryogenese und ihre Anwendungsmöglichkeiten zur Erzeugung von artifiziiellem Saatgut. Wissenschaftliches Kolloquium an der Universität Hannover, 21.06.1994, Hannover
- SCHUMANN, G.; NEUMANN; M.: Plant, tissue and organculture and its application to plant breeding. Seminar der Deutschen Stiftung für internationale Entwicklung. "Seed Technology - Organization and Management of Seed Programmes", 07.07.1994, Quedlinburg

Institut für Qualitätsanalytik Quedlinburg

- HÖFER, R.; GENNARI, D.: HPTLC- Methode zur quantitativen Zuckerbestimmung in Möhren (*Daucus carota L.*). 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg
- HÖFER, R.; GENNARI, D.: HPTLC-Methode zur quantitativen Zuckerbestimmung in Möhren (*Daucus carota L.*), XXIX. Vortragstagung der DGQ, 21./22.03.1994, Quedlinburg
- HOBERG, E.: Bedeutung von Sensorik und nichtflüchtigen Geschmacksstoffen bei der Geschmacksbewertung bei Obst und Gemüse. Symposium des Niedersächsischen Verbandes der Spargelanbauer und -vermehrere V., 10.-11.02.1994, Bücken
- HOBERG, E.: Stand der Inhaltsstoffforschung bei der Erdbeere. Nichtflüchtige Inhaltsstoffe der Erdbeere. 2. Pillnitzer Erdbeertag, 04.06.1994, Dresden-Pillnitz
- HOBERG, E.: Erste Ergebnisse der sensorischen und instrumentellen Analysen der nichtflüchtigen Inhaltsstoffe zur Geschmacksbewertung bei Spargel. Tagung des Arbeitskreises Spargel des Bundesausschusses Obst und Gemüse beim Deutschen Bauernverband e.V., 05.-06.10.1994, Hoyerhagen
- HOBERG, E.: Die geschmacksbildenden Inhaltsstoffe der Erdbeeren. Standortkolloquium, 07.12.1994, Quedlinburg

- PANK, F.; KRÜGER, H.: Nachweis der Korrelation von Inhaltsstoffen in grün- und braunreifen Früchten des einjährigen Kümmels (*Carum carvi* L. f. *annuum*) als Voraussetzung für die Frühselektion. 2. GPZ - Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg
- KRÜGER, H.; ZEIGER, B.: Simultane Destillations - Extraktion in Festphasenkartuschen - eine neue Methode zur Abtrennung ätherischer Öle aus kleinsten Pflanzenproben. XXIX. Vortragstagung der Deutschen Gesellschaft für Qualitätsforschung, 21.-22.03.1994, Quedlinburg
- KRÜGER, H.; ZEIGER, B.: Distillation - Extraction in SPE - Cartridges - a New Procedure for the Separation of Essential Oils in the Breeding of Medicinal and Spice Plants, 25th International Symposium on Essential Oils, 05.-07.09.1994, Grasse (Frankreich)
- KRÜGER, H.: Wasserdampfdestillation in Festphasenkartuschen. 4. Symposium "Qualitätssicherung pflanzlicher Arzneimittel" der Deutschen Pharmazeutischen Gesellschaft, Fachgruppe Arzneimittelkontrolle/Pharmazeutische Analytik, 16.-19.11.1994, Bernau (Schwarzwald)
- KRÜGER, H.; HAMMER, K.; DIEDERICHSEN, A.: Herkunftsvergleich bei Dill des Sortimentes der Genbank Gatersleben sowie vorhandener Zuchtsorten in Bezug auf das Merkmal Carvongehalt in der Dillfrucht. Vortragstagung der Adalbert - Raps - Stiftung, 17.-18.11.1994, Kulmbach
- QUILITZSCH, R.: Anwendung der Farbmessung bei *Daucus carota* L. XXIX. Vortragstagung der DGQ, Quedlinburg, 21./22.03.1994 (Poster) .
- ULRICH, D.: Methodik der Aromaanalyse an Obst und Gemüse. Arbeitstagung der Vereinigung der Spargelanbauer am 10.02.1994, Bücken
- ULRICH, D.; EUNERT, S.: Analytik geschmacksbildender Inhaltsstoffe der Erdbeere. 29. Vortragstagung der DGQ am 21./22.03.1994, Quedlinburg
- ULRICH, D.; RAPP, A.: Flavour analysis for strawberry breeding. COST 94 Workshop on "Quality Criteria". April 19-21, 1994, Bled, Slovenia
- ULRICH, D.: Stand der Inhaltsstoffforschung bei Erdbeeren. Flüchtige Inhaltsstoffe. 2. Pillnitzer Erdbeertag, 04.06.1994, Dresden - Pillnitz
- ULRICH, D.: Einzelkornselektion auf Gesamtölgehalt und Fettsäuremuster am Beispiel der Nachtkerze. Standortkolloquium, 07.09.1994, Quedlinburg
- ULRICH, D.: Gaschromatographische und Schnüffelanalyse von Erdbeer- und Spargelvarietäten. Arbeitstagung der Vereinigung der Spargelanbauer, 06.10.1994, Hoyerhagen
- ULRICH, D.: Aromaanalyse an Erdbeerezuchtmaterial. Standortkolloquium, 30.11.1994, Pillnitz
- PANK, F.: Anforderungen an Methoden der Qualitätsbestimmung an Arznei- und Gewürzpflanzen aus der Sicht des Pflanzzüchters. 4. Tagung der Arbeitsgruppe Arznei- und Gewürzpflanzen der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung am Institut für Pharmazeutische Biologie der Philipps-Universität Marburg/Lahn, 10.11.1994.
- PANK, F.: Anforderungsprofile der Qualität von Obst- und Gemüsesorten als Orientierungshilfe für die Züchtung. Tagung des Fachausschusses des Beirates sowie der Arbeitsgruppe der Bundesanstalt für Züchtungsforschung an Kulturpflanzen "Produktqualität/Toleranz gegen abiotische Schadfaktoren" im Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen, 18.-19.10.1994
- PANK, F.; SCHMIDT, W.; SCHRADER, O.: Qualität gegenwärtig genutzter Pfefferminzsorten (*Mentha x piperita* L.) und ihre Eignung für die Produktion von Teedroge. 4. Bernburger Winterseminar Arznei- und Gewürzpflanzen, 10.- 11.02.1994
- PANK, F.: Aktuelle Projekte der Züchtungsforschung an Arznei- und Gewürzpflanzen in Einrichtungen des Bundes und der Länder - eine Übersicht. 3. Tagung der Arbeitsgruppe Arznei- und Gewürzpflanzen der Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, 29.06.1994

PANK, F.: Grundlagen der Produktion von Arznei- und Gewürzpflanzen und Schwerpunkte der züchterischen Bearbeitung. Universität Hannover. Institut für Angewandte Genetik, 21.11.1994

PANK, F.: Arznei- und Gewürzpflanzenanbau in Deutschland. Beitrag zur Bereitstellung hochwertiger Erzeugnisse aus heimischer Produktion und zur Erhaltung der Artenvielfalt in der Landwirtschaft. Bundesseminar "Umwelt und Energie - welchen Beitrag kann die Landwirtschaft leisten". Bundesverband landwirtschaftlicher Fachschulabsolventen e. V., Organisation für Aus- und Weiterbildung im Agrarbereich, Neunkirchen bei Mosbach/Baden, 24.11.-26.11.1994

PANK, F.: Authorization of plant protection products for herbs in Germany: Present state and further development. Tagung der Arbeitsgruppe "Culture of Medicinal and Aromatic Plants" der Sektion "Medicinal and Aromatic Plants" der ISHS. Nyons, Frankreich, 04.-05.12.1994

Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse Quedlinburg

DÜRING, K.; T4 Lysozym als neue Resistenzquelle gegen *Erwinia carotovora* in transgenen Pflanzen. Kolloquium Phytomedizin, Universität Göttingen, 18.05.1994, Göttingen

DÜRING, K.; Bakterienresistenz in transgenen Nutzpflanzen - Alternative zur klassischen Züchtung?. Biologisches Kolloquium, Universität Braunschweig, 02.06.1994, Braunschweig

DÜRING, K.; T4 Lysozym als Weg zur antibakteriellen Resistenz in transgenen Kartoffeln. Kolloquium Universität Konstanz, 16.06.1994, Konstanz

DÜRING, K.; Lysozyme as a tool for resistance breeding. BMFT-Workshop "Modern Prospects in Molecular Biology of Plants", 28.09.1994, Gatersleben

DÜRING, K.; Möglichkeiten und Grenzen der Gentechnik in der Pflanzenzucht. URANIA Magdeburg, 05.10.1994, Magdeburg

DÜRING, K.; Gentechnische Strategien zur Resistenzzeugung gegen phytopathogene Bakterien. Vortragstagung "Neue Aspekte der Resistenzforschung an Kulturpflanzen", 25.10.1994, Aschersleben

HAAS, H. U.: Karyotypanalyse bei Vitaceen. Vortrag Institut für Obst-, Gemüse- und Weinbau, Universität Hohenheim, 11.05.1994

NOTHNAGEL, T.; BUDAHN H. : Ein CMS - assoziiertes OGURA - mtDNA Fragment in zwei selektierten Linien von *Brassica oleracea* var. *botrytis*. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg

NOTHNAGEL, T.; STRAKA, P. : Artkreuzungen bei *Daucus* zur Induktion cytoplasmatischer männlicher Sterilität (cms). 2. GPZ - Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg

PETERKA, H.; BUDAHN, H.: Genkartierung und QTL-Analyse mit simulierten Populationen. Tagung der AG Molekulare Marker, September 1994, Gatersleben

SCHRADER, O.; AHNE, R.: Karyotypanalyse sehr kleiner Pflanzenchromosomen. 2. GPZ-Tagung, 02.-05.03.1994, Quedlinburg

SCHRADER, O.; AHNE, R.: Zytologische und bildanalytische Arbeiten zur Charakterisierung von Karyotypen 07.02.1994 Vortrag im Institut für angewandte Genetik der Universität Hannover

SCHRADER, O.; AHNE, R.: Karyotypanalyse bei pflanzlichen Chromosomen unter Nutzung der automatischen Bildanalyse. 25.05.1994, Vortrag im Institut für Pflanzenzüchtung und Saatgutwirtschaft der Universität Halle

- SCHRADER, O.; AHNE, R.: Analyse kleinchromosomiger Karyotypen von *Daucus* und *Helianthus* mit Hilfe der automatischen Bildverarbeitung. 04.11.1994, Vortrag auf der 3. Arbeitstagung der AG Zytogenetik in Göttingen
- WINKLER, T.; DÜRING, K.; Production of monoclonal antibodies against pectolytic enzymes of *Erwinia carotovora*. 2nd annual meeting of the project "Plantibodies: a flexible approach to endow plants with new properties, 15.09.1994, Rom

Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen

- BÜSCHER, N.; ZYPRIAN, E.; BLAICH, R.: Molekulare Methoden ermöglichen eine klassische Genetik der Weinrebe. Poster, Gesellschaft für Pflanzenzüchtung, 02.-04.03.1994, Quedlinburg
- DETTWEILER, E.: Database for grapevine varieties and -species. VIth International Symposium on Grape Breeding, 04.-10.09.1994, Yalta, Ukraine
- DETTWEILER, E.: Erhaltungsmaßnahmen genetischer Ressourcen im Weinbau. Symposium Erhaltung pflanzengenetischer Ressourcen in der Land- und Forstwirtschaft. 09.-11.11.1994, Witzenhausen
- EHEMANN, A.; ZYPRIAN, E.; BLAICH, R.: Untersuchungen zur Mauke-Resistenz. Poster, Tagung "Molekulare Phytopathologie" der Deutschen Forschungsgesellschaft; Bad Honnef, 27.-30.03.1994
- EIBACH, R.: Investigations about the inheritance of powdery mildew resistance for grapevine. VIth International Symposium on Grape Breeding, 04.-10.09.1994, Yalta, Ukraine
- HARST, M.: Regeneration system on explants of the grapevine (*Vitis* sp.). VIth International Symposium on Grape Breeding, 04.-10.09.1994, Yalta, Ukraine
- RAPP, A.: Neuere Ergebnisse der Aromaforschung. 36. Veitshöchheimer Weinbautage, 26.01.1994, Veitshöchheim
- RAPP, A.: Volatile flavours of wine: correlation between instrumental analysis and sensory perception. 4. Internat. Wartburg-Aroma-Symposium, 02.03.1994, Wartburg, Eisenach
- RAPP, A.: Weitere Ergebnisse der Aromaforschung. Bundesausschuß für Weinforschung, 25.05.1994, München
- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines und deren Bedeutung für die geschmackliche Beurteilung. Bundessensorik-Seminar, 10.06.1994, Landeslehranstalt Oppenheim
- RAPP, A.: Die Alterung des Weines. Fortbildung "Kellerwirtschaft", Bildungsseminar für die Agrarverwaltung, 18.08.1994, Emmelshausen
- RAPP, A.: Neue Ergebnisse aus der Aromaforschung. Deutsche Weinanalytiker, 02.09.1994, Alzey
- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines: Möglichkeiten zur analytischen Sortencharakterisierung und Qualitätsbeurteilung. Wissenschaftl. Kolloquium, Institut für Obstzüchtung der BAZ, 10.10.1994, Dresden-Pillnitz
- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines. Schulungsseminar des Deutschen Weininstitutes, 21.10.1994, Landeslehranstalt Oppenheim
- RAPP, A.: Advances in the characterization and quantitative determination of typical compounds in grape varieties products. Internat. Convegna, Chimica, Biotechnologie, Agro-Alimentari (CBA) 94, Metodologie, Analitiche innovative in Enologia, 24.10.1994, Positano, Italien
- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines. Institut für Biochemie und Lebensmittelchemie, 11.11.1994, Universität Graz, Österreich

- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines und deren Bedeutung zur Sortencharakterisierung und Qualitätsbeurteilung. Institut für Pharmazeutische Chemie und Lebensmittelchemie, 12.11.1994, Universität Wien, Österreich
- RAPP, A.: Aromastoffe des Weines und deren Veränderung bei der Lagerung/Alterung. Rhein Hessischer Verein der Jungwinzer, 30.11.1994, Alzey
- ZYPRIAN, E.: Molekulare Marker als Hilfsmittel der modernen Rebenzüchtung. 33. Arbeitstagung des Forschungsrings des Deutschen Weinbaues bei der DLG, Ahrweiler, 20.04.1994
- ZYPRIAN, E.; BÜSCHER, N.: Molecular markers in grapevine identification and breeding. OIV Generalversammlung, 06.06.1994, Paris, Frankreich
- ZYPRIAN, E.: Möglichkeiten der Sortenbestimmung mittels PCR. 18. Internationale Geisenheimer Reberedlertagung, 07.07.1994
- ZYPRIAN, E.; BÜSCHER, N.; TSCHAMMER, J.: Search of molecular markers and their application in cultivar identification as well as marker assisted selection. VIth International Symposium on Grape Breeding, 04.-10.09.1994, Yalta, Ukraine
- ZYPRIAN, E.: Die Maukekrankheit der Weinrebe als Modell des Gentransfers. 38. Rebenzüchertagung des Instituts für Rebenzüchtung Geilweilerhof, 23.09.1994, Siebeldingen

VII. Lehrtätigkeit

Institut für Zierpflanzenzüchtung Ahrensburg

GRUNEWALDT, J.:	Universität Hannover,	”Spezielle gartenbauliche Pflanzenzüchtung”
PREIL, W.:	Universität Hamburg,	”Pflanzenzüchtung: Vegetativ vermehrbare Zierpflanzen”
SCHMIDT, H.:	Universität Hannover, Universität Hamburg,	”Obstzüchtung und Gartenbauliche Pflanzenzüchtung” ”Obstzüchtung”

Institut für Epidemiologie und Resistenz Aschersleben

GEISSLER, K.:	Universität Halle-Wittenberg,	”Biologischer Pflanzenschutz”
---------------	-------------------------------	-------------------------------

Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz

FISCHER, C.:	Technische Universität München,	Biologischer Pflanzenschutz Grenzen und Möglichkeiten: ”Resistenzzüchtung beim Apfel”
	Fachhochschule Weihenstephan,	Biologischer Pflanzenschutz Grenzen und Möglichkeiten: ”Resistenzzüchtung beim Apfel”

Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

TIEMANN, H.:	Universität Rostock,	”Pflanzenzüchtung”
--------------	----------------------	--------------------

Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

GERATH, H.:	Universität Rostock,	”Umweltgerechte Düngung” ”Grundlagen der Düngung”
-------------	----------------------	--

Institut für Qualitätsanalytik Quedlinburg

PANK, F.:	Universität Halle-Wittenberg,	”Arznei- und Gewürzpflanzen”
-----------	-------------------------------	------------------------------

Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse Quedlinburg

PRATJE, E.; DÜRING, K.; KRUPINSKA, K.:

Universität Hamburg,

"Molekulare Grundlagen der Entwicklung und Differenzierung II"

Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen

ALLEWELDT, G.:	Universität Hohenheim,	"Allgemeine Agrarwissenschaften, Agrarbiologie und Agrarökonomie"
BLAICH, R.:	Universität Karlsruhe,	"Biologie einheimischer und tropischer Nutzpflanzen" und biophysikalisches Praktikum "Luminoskopie, Porometrie, Kryometrie"
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-, Frucht- und Gemüsesäften"
ZYPRIAN, E.:	Universität Karlsruhe,	"Biologie der Nutzpflanzen"

VIII. Gastwissenschaftler

Institut für Zierpflanzenzüchtung Ahrensburg

MISHRA, Y., Tropical Forest Research Institute Jagalpur/Indien, 04/1994-03/1995

Institut für Pathogendiagnostik Aschersleben

LIN, Y.-C., University, Taichung/Taiwan, 10-11/1994

MANASITH, P., Institut für Pharmazie, F.-Schiller-Universität, Jena, 11-12/1994

OWOLABI, A.T., University Lagos/Nigeria, 10/1994-09/1995

ZHANG, X., Institut of Botany, Beijing/China, 11-12/1994

Institut für Epidemiologie und Resistenz Aschersleben

MANASITH, PH., Institut für Pharmazie, F.-Schiller-Universität, Jena/BRD, 02/1994, 05/1994, 11/1994

MANNINGER, Pflanzenschutzinstitut der Ungarischen Akademie der Wissenschaften/Ungarn, 12/1994

PICKERING, Institute for Crop and Food Research/Neuseeland, 07/1994

TRAISIRI, A., Nakhon Sawan Field Crops Research Center/Thailand, 11/1994

Institut für Obstzüchtung Dresden-Pillnitz

QUIANG, L.S., Foreign Affairs Office of Poplar Forest, Datong/China
(über Hessische Forstliche Versuchsanstalt Hann. Münden), 07/1994
Fortbildung zu In-vitro-Techniken bei Obstbäumen

Institut für Züchtung landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

GAWRILENKO, T., Vavilov-Institut für Pflanzenbau, St. Petersburg/Rußland, 05-07/1994

Institut für Züchtungsmethodik landwirtschaftlicher Kulturpflanzen Groß Lüsewitz

PICKERING, R., Institut for Crop & Food, Christchurch/Neuseeland, 07-08/1994
Erzeugung und Nachweis von Additionen und Introgressionen in *Hordeum vulgare* - *Hordeum bulbosum*
- Bastarden

Institut für Resistenzgenetik Grünbach

ILLG, R., Universidade Estadual de Campinas, Campinas/Brasilien, 03/1994-02/1995

HALUSKOVA, J., Department of Experimental Botany and Genetics, Faculty of Science, P.J. Safarik University, Kosice/Slovakia, 10/1994-07/1995

MAXIM, P., Forschungsinstitut für Getreide und Technische Pflanzen, Fundulea/Rumänien, 10/1994-07/1995

STRELCHENKO, P., Vavilov-Institute of Plant Industry, St. Petersburg/Rußland, 03-06/1994

Institut für Gemüse-, Heil- und Gewürzpflanzenzüchtung Quedlinburg

DOROKHOV, D. B., All-Russian Research Institute of Vegetable Breeding and Seed Production - VNISSOK, Moskau/Rußland, 12/1993-02/1994
Schaffung und Etablierung von Methoden zur Genomanalyse für die Charakterisierung von neuartigem Material

Institut für Qualitätsanalytik Quedlinburg

CHAO, J.-M., Institut für Humanernährung und Lebensmittelkunde, Universität, Kiel/BRD seit 9/1993 Vitamin C-Gehalt und sensorische Eigenschaften neuer Gemüsepflanzen aus Art- und Gattungs-kreuzungen bei Brassicaceen

Institut für Züchtungsmethodik bei Gemüse Quedlinburg

SADIKI, M., Department of Agronomy and Plant Breeding, Hassan II Institut of Agronomy and Veterinary Medicine, Rabat/Marocco, 10-11/1994
Isoenzymanalytik

SCHULTE, J., Institut für Pharmazie, Universität Basel/Schweiz, 11/1994

SOBECK, R., Institut für angewandte Genetik, Universität Hannover/BRD, 03/1994

Institut für Rebenzüchtung Geilweilerhof Siebeldingen

KOSTRIKIN; MAISTRENKO, A., All-Russia Research Institute of Viticulture and Winemaking, Novoche-
kassk/Rostov Region, 08-09/1994

VERSINI, G., Istituto Agrario Provinciale, San Michele/Italien, 05/1994

YAVAS, I., Institut für Lebensmittelwissenschaft und -technologie, Universität Ankara/Türkei, 07-10/1994

IX. Sammlung von Schaderregern

In der BAZ werden im Institut für Pathogendiagnostik sowie für Epidemiologie und Resistenz am Standort Aschersleben Pathogenisolate, Pathovarietäten, Rassen und Aphiden in umfangreichen Sammlungen erhalten sowie ständig durch neue Schaderreger ergänzt, die im Rahmen der Forschungsarbeiten gefunden oder erworben werden.

Die vorhandenen Virus-, Bakterien- und Pilzisolat sowie Aphidenarten stehen für Arbeiten in der BAZ und für Nutzer aus anderen Forschungseinrichtungen als Ausgangsmaterial zur Verfügung.

1. Viren

Virusgruppe	Viren	Isolate
Alfalfa mosaic viren	1	5
Bromoviren	1	4
Bymoviren	3	4
Carlaviren	3	8
Carmoviren	1	1
Caulimoviren	1	1
Closteroviren	1	2
Comoviren	1	1
Cucumoviren	4	25
Dianthoviren	2	4
Furoviren	2	2
Hordeiviren	1	6
Iilarviren	1	2
Luteoviren	3	7
Necroviren	1	2
Nepoviren	7	19
Pea enation mosaic viren	1	
Potexviren	3	6
Potyviren	16	33
Pymoviren	2	5
Sobemoviren	1	1
Tobamoviren	3	8
Tobraviren	1	2
Tombusviren	2	4
Tomato spotted wilt viren	1	5
Tymoviren	3	4

2. Bakterien

Bakteriengattung	-art	-unterart	Pathovarietät	Isolate
<i>Agrobacterium</i>	2			5
<i>Arthrobacter</i>	9			10
<i>Azotobacter</i>	1			1
<i>Bacillus</i>	12			14
<i>Brevibacterium</i>	4			4
<i>Cellulomonas</i>	3			3
<i>Clavibacter</i>	3			89
<i>Corynebacterium</i>	2			2
<i>Curtobacterium</i>	1	4		7
<i>Erwinia</i>	8	3	5	68
<i>Escherichia</i>	1			3

Bakteriengattung	-art	-unterart	Pathovarietät	Isolate
<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	105
<i>Rhodococcus</i>	1			4
<i>Serratia</i>	1			1
<i>Spiroplasma</i>	1			2
<i>Staphylococcus</i>	1			2
<i>Streptomyces</i>	2			8
<i>Xanthomonas</i>	1	2	15	74

3. Pilze

fakultativ parasitische Pilze

Pilzgattung	Rassen	Isolate	Pilzgattung	Isolate
<i>Alternaria</i>		2	<i>Fusarium</i>	300
<i>Ascochyta</i>		26	<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>	3

obligat parasitische Pilze

<i>Erysiphe graminis</i>	232	
<i>Puccinia</i> -Arten (Getreide)	66	157

4. Aphidenarten

<i>Acyrtosiphon pisum</i>	<i>Macrosiphoniella sanborni</i>
- grüne Rasse von Erbse	<i>Macrosiphum albifrons</i>
- rote Rasse von Saatwicke	<i>Megoura vicia</i>
<i>Aphis craccivora</i>	<i>Metopolophium dirhodum</i>
<i>Aphis fabae</i>	<i>Myzus persicae</i>
<i>Aphis frangulae gossypii</i>	<i>Nasonovia ribis-nigri</i>
<i>Aphis nasturtii</i>	<i>Pentatrichopus fragaefolii</i>
<i>Aphis pomi</i>	<i>Rhopalosiphum maidis</i>
<i>Aulacorthum solani</i>	<i>Semiaphis dauci</i>
<i>Brachycorynella asparagi</i>	<i>Sitobion avenae</i>
<i>Brevicoryne brassicae</i>	

X. Serumbank

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.

1. Monoklonale Antikörper (Hybridomzelllinien)

1.1. Viren

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

Clavibacter michiganensis subsp. *michiganensis*
Clavibacter michiganensis subsp. *sepedonicus*
Xanthomonas campestris pv. *pelargonii*

2. Polyklonale Antiseren (geeignet für ELISA)

2.1. Viren

Alfalfa mosaic virus	Illavirus-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	Tymovirus-Gruppe
Hordeivirus-Gruppe	

2.2. Bakterien

<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>michiganensis</i>	<i>Erwinia carotovora</i> subsp. <i>atroseptica</i>
<i>Clavibacter michiganensis</i> subsp. <i>sepedonicus</i>	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
<i>Erwinia amylovora</i>	<i>Erwinia herbicola</i>
	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>phaseolicola</i>

2.3. Pilze

<i>Drechslera teres</i>	<i>Rhynchosporium secalis</i>
<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>pisi</i>	<i>Phytophthora nicotianae</i>
<i>Mastigospodium muticum</i>	<i>Verticillium dahliae</i>

XI. Sachwortverzeichnis

—A—

Abscisinsäure 18; 88
 Acyrtosiphon pisum 182
 Agrobacterium 10; 39; 40; 59; 124; 125; 127; 143; 181
 Alfalfa mosaic virus 183
 Allium sp. 9; 11; 12; 25; 26; 41; 53; 101; 103; 104; 119;
 120; 142; 145; 146; 159; 161
 Alternaria sp. 101; 102; 106; 115; 117; 182
 Alyogyne sp. 27
 Amylase 13
 Amylopektin 13; 88; 89
 Amylose 13; 88; 89; 109; 152; 168
 Aneuploidie 82
 Antheren 71; 100; 103; 117; 127
 Antherenkultur 69; 71; 72; 73; 94; 103; 150
 Antikörper 44; 46; 47; 49; 122; 138; 139; 140; 162; 183
 Antiseren 31; 32; 37; 38; 41; 43; 44; 45; 46; 47; 48; 49; 55;
 147; 163; 183
 Antiserum 41; 47; 48; 52; 97

—Ä—

Äpfelsäure 113

—A—

Aphide 21
 Aphis craccivora 182
 Aphis fabae 182
 Aphis frangulae gossypii 182
 Aphis nasturtii 182
 Aphis pomi 182
 Arabis mosaic virus 42
 Aromanote 130
 Arthrobacter 181
 Artkreuzung 10; 75; 115; 119; 121; 155; 173
 Ascochyta 48; 182
 Aspartataminotransferase 117
 Aulacorthum solani 182
 Ausbreitung 36; 38; 50; 52; 55; 68; 105; 160; 163
 Avena sp. 9; 36; 43; 79; 82; 140; 167
 Azotobacter 181

—B—

Bacillus 181
 Bakterium 36
 Barley mild mosaic virus 161
 Barley yellow dwarf virus 46; 50; 52; 79; 140; 164
 Basismaterial 1; 9; 10; 14; 25; 27; 44; 50; 59; 66; 77; 78;
 79; 80; 81; 82; 89; 91; 92; 101; 103; 106; 107; 109; 110;
 114; 118; 140; 167
 Bastarde 54; 84; 105; 106; 107; 116; 117; 119; 120
 Beerenreife 128
 Beet necrotic yellow vein virus 161; 183
 Beet western yellow virus 46; 50; 51; 52; 163
 Beet yellows virus 183
 Befallsverläufe 62
 Begonie sp. 57
 Beta sp. 120; 147; 148; 161; 163
 Bildanalyse 173
 Bildverarbeitung 120; 128; 155; 174

Bioreaktor 19; 145; 160
 Blattflecken 64; 65; 148
 Bodenmüdigkeit 20
 Botrytis sp. 124; 131; 182
 Brassica sp. 11; 12; 44; 47; 51; 80; 82; 101; 102; 103; 104;
 105; 106; 107; 109; 110; 115; 116; 117; 118; 120; 142;
 147; 148; 154; 155; 161; 163; 170; 171; 173
 Braunrostresistenz 61; 63; 78; 79; 83; 142; 168
 Brevibacterium 181
 Bromoviren 181
 Bulk Segregant Analysis 119
 Bymoviren 181

—C—

Carlaviren 181
 Carmoviren 181
 Carotin 108; 116
 Carum sp. 11; 101; 104; 111; 154; 155; 172
 Carvon 111
 Caulimoviren 181
 cDNA 37; 41; 42; 43; 44; 97; 153
 Cellulomonas 181
 Chalara 182
 Chromosom 39; 61; 73; 74; 83; 84; 98; 99; 115; 117; 119;
 120; 121; 122; 127; 128; 173
 Cladosporium 182
 Clavibacter 39; 54; 143; 148; 160; 161; 163; 164; 181; 183
 Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis 160; 161;
 183
 Clavibacter michiganensis subsp. sepedonicus 183
 Clavibacter sp. 39; 54; 143; 148; 160; 161; 163; 164; 181;
 183
 Clematis sp. 10; 19; 20; 145; 159; 160
 Clerodendrum sp. 27
 Closteroviren 46; 181
 cms 12; 25; 26; 116; 117; 119; 145; 155; 173
 Colletotrichum 182
 Comoviren 181
 Computersimulation 118
 Corynebacterium 181
 Cucumber mosaic virus 183
 Cucumoviren 181
 Curtobacterium 181
 Cyandrocladium sp. 21; 22; 28
 Cytogenetik 83; 135
 Cytoplasma 96; 117; 152
 cytoplasmatische männliche Sterilität 12; 25; 26; 116; 117;
 119; 145; 155; 173
 Cytospora sp. 69; 182

—D—

Dactylis sp. 31; 33; 34; 146; 160
 Daucus sp. 12; 13; 53; 101; 108; 110; 114; 117; 120; 121;
 154; 155; 171; 172; 173; 174
 Diagnose 25; 32; 33; 34; 37; 38; 43; 44; 45; 46; 47; 48; 49;
 52; 61; 62; 71; 72; 75; 82; 83; 84; 90; 92; 97; 100; 101;
 102; 127; 138; 139; 140; 141; 147; 148; 154; 155; 162;
 163; 164; 172; 179
 Dianthoviren 181
 Diaphorase 73; 117
 DIC 119
 Dokumentation 15; 74; 133

Drechslera sp. 31; 34; 35; 36; 45; 47; 48; 50; 63; 64; 146; 149; 161; 182
 Drechslera teres 31; 34; 35; 36; 45; 47; 50; 63; 64; 146; 149; 161

—E—

einkettiger Antikörper 122
 Einzelpustellinien 60
 ELISA 26; 32; 37; 40; 41; 43; 44; 45; 46; 47; 48; 49; 51; 52; 92; 93; 94; 104; 105; 118; 119; 153; 161; 164; 183
 Embryogenese 18; 19; 20; 127; 141; 145; 158; 159; 160; 171
 Embryokultur 72
 Enzym 46; 90
 Epidemiologie 3; 6; 8; 33; 36; 46; 47; 48; 50; 52; 59; 61; 63; 68; 69; 79; 84; 99; 105; 115; 148; 163; 176; 178; 181
 Episcia sp. 17; 145; 160
 Erdbeerton 130
 Erhaltungszüchtung 132
 Erica sp. 21; 22; 28
 Erwinia amylovora 58; 59; 66; 139; 164
 Erwinia carotovora subsp. atroseptica 44; 45
 Erwinia chrysanthemi 45
 Erwinia sp. 44; 45; 58; 59; 66; 67; 90; 122; 123; 139; 143; 162; 164; 165; 169; 173; 174; 181
 Erysiphe graminis 47; 62; 154; 182
 Erysiphe sp. 25; 28; 29; 31; 39; 47; 48; 62; 66; 67; 70; 75; 78; 79; 83; 84; 89; 149; 150; 154; 166; 182
 Escherichia sp. 38; 41; 44; 90; 122; 181
 Esterase 34; 73; 117
 Euphorbia sp. 18; 19; 144; 158; 159
 Evaluierung 44; 50; 52; 59; 62; 63; 67; 78; 105; 106; 107; 117; 124; 132; 139; 168
 Explantate 19; 26; 27; 40; 70; 71; 104; 127

—F—

Farbe 108; 110; 112
 Färbepflanzen 133
 Fenchon 111
 Festuca sp. 83; 115
 Fettsäure 110
 FISH 121; 122; 128
 Fluoreszenzmikroskopie 36; 119
 Foeniculum sp. 101; 110; 111
 Fragaria sp. 9; 13; 24; 25; 38; 66; 108; 110; 113; 114; 149; 150; 155; 171; 172
 Frost 21
 Frostresistenz 126
 Frucht 15; 29; 72; 177
 Fruchtqualität 28; 29; 66; 67; 68; 76
 Furaneol 113; 130
 Furoviren 181
 Fusarium sp. 47; 48; 58; 79; 91; 92; 182

—G—

Gaswechsel 177
 Genanalyse 127
 Genbank 41; 50; 52; 53; 54; 60; 62; 63; 68; 69; 73; 75; 77; 78; 79; 80; 85; 89; 105; 107; 111; 112; 114; 135; 148; 164; 172
 Genetik 7; 15; 26; 83; 117; 118; 134; 135; 136; 137; 139; 141; 142; 158; 165; 166; 173; 174; 179
 genetische Variabilität 18; 27; 75
 Genexpression 90
 Genkarte 15; 17; 118; 142

Genomanalyse 140; 142; 170; 179
 Gentechnik 115; 122; 153; 166; 170; 173
 Gentransfer 10; 13; 15; 101
 Geschmack 28; 29; 66; 112; 113
 Gewebekultur 10; 145; 165
 Gloxinia sp. 48
 Glucosinolat 116

—H—

haploide 95
 Hefe 90; 130
 Helianthus sp. 120; 122; 174
 Heritabilität 85
 Heterosis 80
 Hordeiviren 181
 Hordeum sp. 9; 12; 13; 31; 34; 36; 37; 38; 39; 45; 47; 48; 50; 53; 59; 61; 62; 63; 64; 83; 84; 89; 97; 98; 99; 140; 141; 142; 143; 149; 150; 152; 153; 161; 165; 169; 170; 179
 Hüllprotein 41; 122
 Hybride 72; 82; 101; 102; 104; 153
 Hybridisierung 17; 18; 38; 42; 61; 74; 80; 81; 101; 103; 104; 117; 128; 140; 167
 Hydroxyprolin 86

—I—

Identifizierung 1; 15; 24; 34; 43; 69; 82; 83; 84; 98; 102; 111; 117; 125; 126; 129; 131; 142; 155; 162
 Ilarviren 181
 Immunfluoreszenztest 45; 47
 Infektion 29; 31; 34; 36; 37; 48; 50; 51; 55; 59; 62; 63; 64; 70; 92; 93; 105; 123; 161
 Inhaltsstoffe 1; 108; 109; 110; 113; 114; 124; 130; 155; 168; 171; 172
 Inkompatibilität 119
 Integrierter Pflanzenschutz 135
 interspezifische Introgression 119
 Interzellularräume 123
 Isatis sp. 133
 Isoenzym 73; 87; 90; 117; 118; 125
 Isoenzymanalyse 34; 82; 84; 117

—K—

Kallus 18; 70; 86; 87; 96; 103
 Kartierung 12; 14; 15; 16; 17; 98; 99; 118; 152
 Karyotypanalyse 120; 155; 173
 Keimpflanzentest 62
 Klon 14; 16; 17; 20; 21; 22; 23; 24; 25; 27; 28; 29; 37; 38; 40; 41; 42; 43; 44; 61; 68; 69; 75; 77; 78; 82; 85; 97; 105; 167
 Kopplungsanalyse 119
 Kreuzungsbarrieren 82; 119

—L—

Längenpolymorphismus 127
 Langzeitlagerung 166
 Leek yellow stripe virus 25; 26; 41; 43
 Leucinaminopeptidase 73; 117; 118
 Lolium sp. 42; 43; 85; 115; 139; 167
 Luteoviren 46; 52; 139; 147; 148; 161; 181
 Lycopersicon sp. 39; 48; 54; 55; 98; 124; 148; 160; 163; 164

—M—

Malus sp. 9; 10; 11; 12; 15; 16; 28; 38; 39; 59; 66; 67; 69;
70; 71; 72; 73; 74; 75; 120; 138; 139; 140; 141; 142; 144;
145; 149; 150; 158; 159; 160; 165; 166; 176
Malvin 131
Markergen 72
Marssonina sp. 14
Massenvermehrung 19
Mastigosporium muticum 31; 33; 34; 47; 160
Mastigosporium sp. 31; 32; 33; 34; 47; 146; 160
Meiose 117
Mentha sp. 9; 111; 112; 113; 155; 172
Metopolophium dirhodum 52; 53
Microbacterium 182
Micrococcus 182
Mikrosporenkultur 84; 127
molekulare Marker 51; 98; 118; 125; 158; 159; 173; 175
Molekulargenetik 91
Morphin 110; 118
Morphologie 25; 28; 45; 55; 71; 89
Most 126; 128
mRNA 10; 97
mtDNA 116; 117; 155; 173
Mycosphaerella sp. 182
Myzus persicae 41; 50; 52

—N—

Nachweis 25; 32; 33; 34; 37; 38; 43; 44; 45; 46; 47; 48; 49;
52; 61; 62; 71; 72; 75; 82; 83; 84; 90; 92; 97; 100; 101;
102; 127; 138; 139; 140; 141; 147; 148; 154; 155; 162;
163; 164; 172; 179
Nährstoffeffizienz 77; 86; 151; 167; 168
Necroviren 181
Nectria sp. 29
Nepoviren 181
Nicotiana sp. 39; 48; 105; 122; 161
Nocardia 182

—O—

OGURA 116; 155; 173
Oidium sp. 131; 132; 133; 156

—Ö—

Ölgehalt 110; 113

—O—

osmotisches Potential 126
Oxalsäure 116

—P—

Panonychus sp. 66
Papaver sp. 9; 110; 118
Parthenogenese 72; 73
Pathogenbank 43; 50; 62
PCR 10; 16; 32; 33; 34; 35; 38; 40; 42; 45; 46; 47; 48; 58;
74; 75; 82; 95; 98; 99; 102; 103; 125; 147; 153; 156; 161;
175
Pea enation mosaic viren 181
Pea enation mosaic virus 183
Peanut stunt virus 183
Pelargonie sp. 57
Peroxidase 19; 73; 156

Phenol 38; 44
Phenolgehalt 131
Phoma sp. 24; 101; 102; 106; 115; 117; 182
Phomopsis 182
Photoperiode 36; 71
Phytohormon 18; 88
Phytophthora sp. 24; 25; 48; 66; 77; 78; 143; 145; 160; 161;
167; 182
Pickering 178; 179
Pilz 21; 22; 29; 31; 34; 36; 37; 38; 45
Pisum sp. 12; 13; 105; 108; 118; 119; 155; 182
Plasmodiophora sp. 101; 107; 115; 171
Plasmopara sp. 64; 65; 131; 132; 133; 148
Podospaera sp. 16; 25; 28; 29; 31; 38; 39; 48; 66; 67; 70;
75; 78; 79; 83; 84; 89; 145; 149; 150; 154; 160; 166
Pollenkultur 82
Polymyxa sp. 37; 38; 146; 161
Populationsdynamik 50; 149; 165
Potato leafroll virus 46; 183
Potato virus A 49; 147; 183
Potato virus M 77; 183
Potato virus S 77
Potato virus X 77; 183
Potato virus Y 39; 40; 41; 46; 49; 77; 146; 160; 161; 183
Potexviren 181
Potyviren 37; 41; 42; 43; 44; 49; 181
Prämunisierung 54; 55; 163; 164
Protein 13; 15; 19; 37; 38; 41; 51; 87; 88; 97; 117
Proteus 182
Protoplastenfusion 17; 69; 81; 95; 101; 102; 107; 117; 118;
142
Protoplastenkultur 69; 139; 142; 145; 154; 160
Protoplastenregeneration 102; 145
Prunus sp. 9; 10; 11; 59; 66; 68; 69; 71; 72; 74; 146; 150;
166
Pseudocercospora sp. 182
Pseudomonas sp. 37; 45; 54; 58; 66; 96; 141; 143; 147; 162;
163; 182
Pseudomonas syringae pv. phaseolicola 162
ptDNA 117
Puccinia sp. 47; 50; 59; 60; 61; 62; 63; 83; 85; 113; 141;
143; 149; 154; 165; 167; 182
Pymoviren 181
Pythium sp. 182

—Q—

Qualität 1; 18; 49; 78; 81; 88; 102; 108; 110; 111; 112; 113;
127; 155; 166; 167; 172

—R—

Raphanus sp. 11; 12; 52; 101; 102; 105; 107; 109; 115; 116
Rassen 24; 25; 70; 181; 182
Rebprotoplasten 128
Rebsorten 124; 125; 126; 127; 128; 129; 130; 131; 132; 138
Regeneration 10; 11; 40; 69; 70; 71; 72; 73; 81; 86; 87; 96;
103; 127; 128; 145; 156; 159; 168; 174
Reife 89
Reseda sp. 133
Resistenz 1; 3; 6; 8; 9; 10; 12; 15; 16; 17; 20; 21; 22; 24;
25; 26; 28; 29; 31; 32; 33; 34; 36; 38; 40; 42; 46; 47; 48;
50; 51; 52; 53; 54; 58; 59; 60; 61; 62; 63; 64; 66; 67; 68;
69; 70; 72; 74; 75; 76; 77; 78; 79; 80; 81; 82; 83; 84; 85;
89; 91; 92; 93; 94; 95; 96; 97; 98; 99; 101; 105; 106; 107;
113; 115; 117; 119; 120; 122; 123; 124; 127; 132; 140;
141; 142; 146; 147; 148; 149; 150; 152; 154; 162; 163;
164; 165; 166; 167; 173; 174; 176; 178; 181

Rhizoctonia 182
 Rhodococcus 182
 Rhododendron sp. 12; 17; 22; 23; 144; 145; 158
 Rhopalosiphum maidis 52; 53
 Rhynchosporium sp. 32; 47; 65; 93; 98; 161
 Rosa sp. 10; 11; 12; 14; 18; 20; 21
 Rotweinfarbstoff 131
 Rubus sp. 66
 Ryegrass mosaic virus 43; 46; 147; 149; 162; 164; 183

—S—

Saintpaulia sp. 10; 17; 48; 145; 160
 Samenanlagenkultur 103
 Säureabbau 128
 Schwachwuchs 68
 Sclerotinia sp. 122; 124
 Secale sp. 9; 12; 78; 79; 83; 89; 142; 168
 Sekretion 122; 123
 Selbstfertilität 29; 68; 72; 79
 Selektion 1; 11; 13; 15; 16; 17; 22; 24; 40; 44; 50; 52; 53;
 54; 58; 59; 62; 63; 64; 66; 70; 75; 77; 78; 79; 80; 81; 83;
 86; 87; 88; 89; 92; 93; 94; 97; 98; 102; 105; 108; 109;
 110; 115; 116; 117; 118; 119; 124; 126; 127; 129; 130;
 131; 148; 163; 166; 167
 Septoria sp. 63; 91
 Sequenzierung 32; 38; 41; 42; 44; 146; 161
 Serologie 48
 Serum 26; 41; 47
 Signalpeptid 123
 Sinapis sp. 80; 101; 102; 107; 109; 115; 116; 117; 118; 154;
 170
 Sitobion sp. 52; 53
 Sobemoviren 181
 Solanum sp. 9; 10; 11; 12; 28; 39; 45; 54; 77; 78; 81; 82;
 86; 89; 90; 95; 96; 108; 114; 122; 123; 139; 140; 142;
 146; 151; 152; 153; 160; 167; 168; 170
 somatische Embryogenese 19; 145; 160
 Sondenscreening 61
 Sortencharakterisierung 128; 156; 174; 175
 Spiroplasma 182
 Standfestigkeit 79
 Staphylococcus sp. 182
 Stärke 80; 88; 89; 93; 108; 109; 152; 168
 Stickstoffeffizienz 83; 167
 Stiellähme 126
 Streptomyces sp. 182
 Streßphysiologie 3; 6; 78; 79; 80; 82; 86; 126; 151; 168
 Suspensionskultur 18; 86; 99
 Symptomausbildung 52

—T—

T4 Lysozym 10; 123; 173
 Temperatur 69; 126
 Tibouchina sp. 27
 Tobamoviren 181
 Tobraviren 181
 Toleranz 1; 9; 10; 28; 50; 54; 66; 79; 86; 87; 105; 124; 140;
 164; 172
 Tomato spotted wilt viren 181
 Tombusviren 181
 Toxin 31; 124
 Transformation 17; 18; 38; 40; 99; 100; 101; 122; 145; 168
 transgene Pflanze 90
 Trisome 121
 Triticale 9; 13; 63; 79; 89; 167

Triticum sp. 9; 11; 36; 37; 52; 53; 62; 63; 89; 91; 92; 93;
 94; 97; 99; 140; 152; 154; 161
 Trockenheit 10; 126
 Trockenresistenz 126; 138
 Tumorinduktion 124
 Turnip mosaic virus 39; 49; 104; 105; 162
 turnip yellows luteovirus 50
 TuYV 50; 51; 52; 148; 163
 Tymoviren 181

—U—

Unterlage 16; 69

—V—

Variabilität 1; 11; 18; 21; 27; 32; 33; 34; 70; 73; 74; 75; 78;
 79; 80; 81; 85; 86; 96; 107; 113; 115; 116; 119; 152; 169
 Vektor 41; 52; 98; 101
 Venturia sp. 16; 28; 29; 66; 67; 70; 75; 144; 150
 Verarbeitung 68; 89; 109; 151; 168; 169
 Verticillium sp. 58; 66; 149
 Virulenz 1; 34; 43; 44; 47; 52; 58; 59; 60; 63; 64; 104; 105
 Virulenzunterschiede 43; 48; 50
 Virus 10; 26; 37; 38; 41; 42; 43; 44; 49; 50; 52; 77; 78; 94;
 98; 105; 115; 122; 132; 140; 146; 147; 148; 160; 161;
 162; 163; 164; 181; 183
 Virusübertragung 52
 Vitamin C 116; 155; 179
 Vitis sp. 38; 116; 120; 124; 125; 127; 128; 129; 130; 132;
 138; 140; 142; 150; 156; 157; 174; 177

—W—

Wachstum 21; 23; 24; 25; 31; 86; 90; 92; 93; 102; 112; 132;
 144; 158
 Wasserhaushalt 88; 177
 Wassermangel 86; 87; 126
 Wein 38; 116; 129; 130; 142; 150; 157; 177
 Weinbeere 130
 Weinqualität 124; 126; 129; 132; 133
 Winterfrost 69; 140
 Winterraps 50; 51; 52; 79; 80; 83; 84; 148; 163; 167; 168

—X—

Xanthomonas campestris pv. pelargonii 46; 47; 57; 141;
 147; 163; 183
 Xanthomonas sp. 36; 46; 47; 54; 57; 58; 140; 141; 147; 161;
 163; 182; 183

—Z—

Zellkultur 94; 103; 105; 169
 Züchtung 1; 3; 6; 8; 9; 21; 22; 25; 26; 27; 28; 29; 40; 45; 47;
 49; 62; 66; 68; 74; 76; 77; 78; 79; 80; 81; 82; 88; 89; 91;
 93; 94; 109; 114; 117; 131; 142; 143; 144; 151; 152; 159;
 165; 166; 167; 171; 172; 173; 176; 178
 Zuckereinlagerung 128
 Zwergrostresistenz 59; 60; 61; 149; 164

XII. Namensverzeichnis

—A—

Abad 122; 139
 Afanosenko 142
 Ahne, R. 4; 115; 118; 120; 121; 155; 173; 174
 Aldwinckle 143
 Alleweldt, G. 2; 4; 6; 7; 128; 131; 156; 177
 Altenhein, C. 144; 158
 Ananiew 142
 Andréé, S. 3
 Andreeva, L. 147
 Artamonova, E. 150
 Assani, A. 4; 95; 169

—B—

Bachmann, O. 5; 124; 125; 156
 Backes, G. 152
 Bader 134
 Bahlow, R. 152
 Balde, M. 146
 Balko, C. 3; 86; 87; 152; 168; 169
 Barchend, G. 2; 39; 40; 146; 160; 161
 Bartels 63; 134
 Bartels, Ch. 14
 Bartling, S. 152
 Bartling, St. 90
 Bauer, E. 4; 99; 152; 169
 Bayonove, C. 156
 Becker 135
 Benvenuto 122; 140
 Berardi 140
 Bercetche 139
 Berkelmann 135
 Bertschinger 140
 Bielka, S. 3; 168
 Biwol, T. 150
 Blaich, R. 5; 124; 156; 174; 177
 Blanke, M. 149; 165
 Blanke, M. M. 149
 Blüthner, W. D. 150; 166
 Bohling 136
 Bondarenko, A. 150
 Bonn 140
 Börner 134
 Börner, T. 7
 Bos 141
 Bouman 141
 Bräcker, G. 15
 Brandau, K. 2; 19
 Braunmiller 134
 Brielmaier-Liebetanz 48
 Brielmeier-Liebetanz 134
 Broer 134
 Brown 143
 Bruinenberg, P. M. 151
 Brüning, H. 4; 6
 Bryngelsson 31; 142
 Bryngelsson, T. 161
 Budahn, H. 4; 101; 116; 117; 118; 119; 121; 155; 156;
 173
 Bukartschuk, V. 150
 Bulat 46

Bürgermeister 134
 Bürgermeister, W. 146; 161
 Burr, T. 143
 Büscher, N. 5; 125; 127; 156; 174; 175
 Buser 142
 Büttner 68; 75; 135
 Büttner, R. 166

—C—

Cacho, C. F. 156
 Callebaut 138
 Carsten 134
 Casper 134
 Cavelier, N. 153
 Chaanin, A. 22; 24; 144; 145; 158
 Chao 116; 136
 Chao, J. 155
 Chaoluan, L. 138
 Cherreau 139
 Chevreau 139
 Chrestensen, N. L. 7
 Clauß, E. 4; 79; 105; 106; 107; 109; 110; 115; 116; 117
 Clauss, E. 155
 Coff, C. 154
 Collet 142
 Comeau 140
 Conner 141
 Conrad 135

—D—

Dalla Serra, A. 157
 Darsow, U. 3; 77; 78; 151; 167
 Dathe, B. 3; 66; 74; 76; 114; 149; 166
 De Jong 140
 Debener, T. 2; 14; 158; 159
 DeBoer 140
 Depicker 122; 138
 Dettweiler, E. 125; 132; 156; 174
 Dettweiler-Münch, E. 5
 Diederichsen, A. 172
 Dietzmann, E. 5
 Dill, P. 3; 78; 79; 89; 111; 151
 Dohm, A. 20
 Dörfel, P. 152
 Dörffling 135
 Dörffling, K. 169
 Dorokhov, D. B. 154; 170
 Dorokov 142
 Dossenheim 68
 Douma, A. E. 153
 Drescher, A. 3
 Drewes-Alvarez, R. 14; 20
 Dry 126
 Dry, P. 138
 Dubuc 140
 Dunemann, F. 2; 15; 16; 17; 144; 158; 159
 Düring, H. 5; 126; 128; 156; 157; 177
 Düring, K. 4; 6; 122; 123; 155; 173; 174; 177
 Duveiller 140

—E—

Ebbinghaus, R. 22; 27; 28; 145
 Ecke 52
 Effmert, B. 3; 6; 83; 151; 167
 Ehemann, A. 5; 124; 156; 174
 Ehrig, F. 2; 31; 38; 39; 122; 123; 146; 148; 160; 163
 Eibach, R. 5; 131; 132; 156; 174
 Eichenlaub 57; 134
 Eisbein, K. 3; 47; 54; 148; 160; 163; 164
 Ellis 140
 Elsner, R. 7
 Emons 141
 Enderlein 115
 Eunert, S. 172

—F—

Fang 138
 Feldheim 136
 Feldheim, W. 155
 Felsenstein 60; 136
 Felsenstein, F.G. 154
 Felten, R. 20
 Ferreira, V. 156
 Find 138
 Fischbeck 84; 136
 Fischbeck, G. 149; 152; 164
 Fischer 68; 69; 73; 75; 122; 134; 135
 Fischer, C. 3; 58; 66; 70; 131; 149; 150; 165; 166
 Fischer, Ch. 38
 Fischer, M. 150; 166
 Fisher 140
 Flamme, W. 3; 6; 78; 79; 88; 89; 151; 152; 167; 168
 Flanzky, C. 156
 Flath 134
 Foroughi-Wehr, B. 4; 47; 93; 94; 98; 99; 153; 154; 169
 Franck, P. 7
 Frei, U. 96; 97; 152; 153; 169
 Friedt, W. 7; 80; 122; 135
 Fuchs 121; 122; 135

—G—

G. Melz 151
 G. Proeseler 151
 Gabler, J. 2; 47; 48; 147
 Garve, A. 6
 Gasché, B. 21; 29
 Gavrilenko 82
 Gebauer 135
 Gebhart 68; 135
 Geiger 7; 83; 136
 Geiger, H. 7
 Geissler, K. 148; 163; 176
 Geißler, K. 3; 52; 53; 54
 Gennari, D. 154; 171
 Gerath, H. 3; 6; 83; 151; 167; 176
 Gerdemann 134
 Gerick, E. 153
 Gerlach 48; 134
 Goddrie 68; 141
 Götz, R. 148; 164
 Grafe, C. 3; 73
 Graichen, K. 3; 46; 50; 52; 147; 148; 161; 163
 Graner, A. 4; 50; 84; 98; 99; 152; 153; 154; 169; 170
 Grare, S. 153
 Griesbach, E. 3; 47; 54; 57; 148; 160; 161; 163; 164

Griesbach, Erika, 147
 Groß 47; 135
 Grundwaldt, J. 160
 Grüneberg 134
 Grunewald, J. 47
 Grunewaldt, J. 6; 144; 145; 158; 159; 160; 176
 Grunewaldt, J. 2; 17; 45
 Guillaumes, J. 144
 Guseva 142
 Gusseva 142
 Gutmann 136
 Gysi 142

—H—

H. Schmidt 144
 Haas, H. U. 173
 Haas, H.U. 156
 Haas, H.-U. 4; 120; 128
 Haase, I. 166
 Habekuß, A. 3; 50; 53; 68; 79
 Habekuss, A. 148; 149; 150; 164; 165
 Hall, A. 156
 Hammer 50; 52; 53; 54; 60; 62; 63; 107; 112; 114; 135
 Hammer, K. 172
 Handke, S. 25; 29
 Hanelt 41
 Hanke, V. 3; 69; 70; 71; 74; 150; 166
 Hänisch, R. 168
 Harrison, B.D. 147
 Harst, M. 5; 127; 132; 156; 174
 Hartleb 136
 Hastrich, H. 156
 Heeger 142
 Heidekamp, F. 153
 Heinz 135
 Hemleben 82; 137
 Henning, J. 18
 Herrbach, O. 46
 Herrmann, M. 3; 79; 167
 Herrmann, R. 152
 Hespeler, O. 7
 Heßberg, W. v. 5
 Hilber, B. 151; 152
 Hiller 134
 Hinze, E. 151
 Hoberg, E. 4; 108; 112; 113; 154; 155; 171
 Höfer, M. 3; 71; 72; 73; 149; 150; 165; 166
 Höfer, R. 4; 6; 108; 110; 154; 171
 Hofmann, K. 18; 25; 26
 Hofmann, R. 6
 Holme 138
 Holzerland, A. 154
 Hommel, B. 146
 Houben, A. 152; 153
 Huancaruna-Perales 70; 134
 Hunter 139
 Huth 43; 134
 Huth, W. 147; 148; 162; 164
 Hvoslef-Eide 141

—J—

Jacobi 134
 Jahnke 123; 135
 Jahoor 99; 136
 Jahoor, A. 149; 152; 153; 164
 Jakob, L. 157

Janse 141
 Jansen, G. 3; 151; 152; 168
 Järvekülg, L. 147
 Johnston 143
 Jugert, M. 151; 152
 Jung, C. 152
 Junge, H. 2; 18; 145
 Junghans, W. 150; 166
 Jürgens, H.-U. 3; 86; 87; 88; 151; 152; 168; 169

—K—

Richter 163
 Kahnau, R. 17; 144; 158
 Kaiser, R. 133
 Kaiser-Alexnat, R. 5
 Kandawa, M. 84
 Kasha 140
 Kastirr, U. 2; 31; 33; 38; 47; 146; 160; 161
 Katzhammer, M. 154
 Kecke, S. 5; 53
 Keller 135
 Kellerhals 68; 142
 Kellerhals, H. 150
 Kellerhals, M. 149
 Kellermann, A. 98; 152; 154
 Kemp 68; 141
 Ketzel, A. 145
 Keulemans 72; 138
 Kicherer, S. 3; 61; 149
 Kicherer, W. 164
 King 139
 Kirchner, S. 152
 Kittlitz, v. 136; 169
 Kleemann, M. 5
 Klenert, M. 5; 133
 Klingauf, F. 7
 Klocke, E. 4; 101; 102; 103; 104; 105; 154; 170; 171
 Koch, K. 144; 159
 Kontzog 135
 Kopahnke, D. 3; 36; 46; 47; 48; 63; 146; 149
 Kophanke, D. 146; 149; 161
 Koprek, T. 168
 Kovács 143
 Krämer, I. 2; 45; 54; 147; 161; 162; 164
 Krämer, R. 4; 41; 44; 104; 105; 115; 147; 154; 162
 Kratka 143
 Kratzsch 134
 Kremen 141
 Kreuzaler 122
 Krieghoff, O. 3; 38; 70; 150; 160; 166
 Krüger, H. 2; 4; 6; 104; 111; 155; 172
 Krüger, J. 2; 6; 21; 28; 29; 144; 146
 Kudela 143
 Kühne, T. 2; 6; 37; 38; 119; 146; 161
 Kühne, TH. 146
 Künzel, G. 152; 153
 Künzler, J. 154
 Kvaalen 141

—L—

Lang 126
 Lang, A. 141; 156
 Lautenbach, G. 5
 Lebe 136
 Leistner, H.-U. 2; 6; 41; 43; 44; 105; 147; 154; 162
 Lellbach, H. 3; 85; 147; 149; 162; 164; 167

Lenz, F. 7
 Lesemann 43
 Lesemann, D.-E. 147; 148; 161; 162; 164
 Lespinasse 68; 72; 139
 Lespinasse, Y. 144
 Leuven 72
 Lieberei 19; 20; 135
 Lieberei, R. 144; 145; 158; 159; 160
 Lin 138
 Lind, V. 4; 92; 94; 97; 152; 153
 Linke 117
 Linz, A. 3; 83
 Löptien 107
 Lorenz 137
 Lörz 123; 135
 Lösing 21
 Lössl, A. 4; 96; 152; 153; 170
 Lowey's 138
 Ltifi, A. 4; 95; 152
 Ludwig, W. F. 152
 Lutz, J. 154

—M—

M. Kellerhals 144
 M. Scholz 151
 Maiss, E. 148
 Majunke 135
 Malepszy 141
 Manganaris 139
 Markowitz 136
 Markussen, T. 2; 16; 159
 Marschke, J. 27
 Marthe, F. 153
 Martin, J. C. 156
 Martin, R. 152
 Mattiesch, L. 14; 25; 145
 Mattusch 134
 Mayer 136
 Mechelen, van J. 153
 Mechelen, van J.R. 152
 Meier, K. 18; 159
 Meister 135
 Melchinger, A. E. 153
 Melchinger, A.E. 152
 Melz, G. 164; 169
 Mendel, R.R. 168
 Mendgen, K. 7
 Messmer, M.M. 153
 Meyer 134
 Michel, M. 3; 84; 99; 151; 164
 Miedaner 136
 Mielke 134
 Mironenko 46
 Mittelstädt 137
 Mohler, V. 153
 Möller 135
 Möllers, C. 153
 Morris 139
 Müller 56; 134; 136
 Müller, D. 61; 149; 164
 Munch 134
 Muraya, J. K. 152
 Muzitschenko 142

—N—

Nachtigall, M. 2; 34; 36; 65; 146; 149; 161

Naumann, I. 17
 Naumann, K. 2; 6; 44; 45; 57; 147; 148; 162; 163; 164
 Nerlich, A. 168
 Neumann, M. 4; 6; 26; 102; 105; 154; 170; 171
 Niebergall 129; 136
 Niebergall, H. 157
 Nielitz, M. 146; 161
 Niemirowicz-Scytt 141
 Niepold 45; 134
 Niks 141
 Ninnemann 137
 Ninnemann, H. 167
 Norgaard 138
 Nothnagel, T. 4; 54; 102; 104; 107; 108; 110; 114; 116;
 117; 118; 121; 173
 Nothnagel, TH. 155
 Nüske 136

—O—

Obst, A. 148
 Ochatt 69
 Odenbach 134
 Oertel, C. 150; 166
 Oertel, H. 151
 Olivier 46
 Olsen, O. 152
 Oppitz, K. 154

—P—

Pais 142
 Pank, F. 4; 6; 104; 110; 112; 155; 172; 173; 176
 Parisi 68
 Parisi, L. 144
 Parlevlieth 141
 Patat-Ochatt 69; 139
 Paulin 139
 Perez de la Vega 142
 Peter, K. 2; 7
 Peterka, H. 4; 52; 103; 108; 117; 118; 119; 121; 148;
 155; 163; 173
 Peterka, M. 163
 Pfeilstetter 134
 Pfeilstetter, E. 146; 161
 Pich, U. 153
 Pichler, U. 157
 Pickering 84; 140; 151; 178; 179
 Pickering, R. 164
 Polak 143
 Porsch, P. 4; 123
 Poschenrieder 135
 Posselt 42; 85; 136; 137
 Poupard, P. 153
 Preil, W. 2; 18; 19; 22; 24; 27; 28; 29; 144; 145; 158;
 159; 160; 176
 Prings, R. J. 149
 Priyanto 139
 Prochnow 33
 Prochnow, J. 62
 Proeseler, G. 3; 6; 43; 50; 84; 99; 105; 115; 147; 148;
 149; 151; 161; 162; 164
 Proll, E. 2; 43; 44; 46; 49; 81; 105; 147; 149; 154; 162;
 164

—Q—

Quilitzsch, R. 4; 108; 110; 155; 172

—R—

R. Pickering 151
 Rabenstein F. 47
 Rabenstein, F. 2; 38; 41; 42; 43; 46; 47; 49; 52; 56; 57;
 93; 105; 147; 148; 149; 161; 162; 163; 164
 Rabsilber, A. 124; 156
 Radies, M. 25; 28; 29
 Radosta 137
 Radosta, S. 151
 Rakah, B. 140
 Ramm 56; 136
 Ramponi, M. 157
 Rapp, A. 156; 157; 172; 174; 175
 Rapp, A. 5; 6; 68; 114; 128; 129; 130; 131; 156; 157;
 177
 Refatti 140
 Reiss, E. 2; 31; 46; 48; 161
 Reustle 128; 136
 Reustle, G. 156
 Rhode, W. 166
 Richter, J. 147
 Richter, K. 58; 68; 69; 149; 160; 164; 165; 166
 Richter, S. 146
 Riemer, E. 2; 158; 159
 Röbbelen 52; 135
 Rockstroh, K. 24
 Römheld 136
 Roux, S. 3
 Rudloff, E. 3; 6; 79; 80; 167; 168
 Rudolph 135
 Ruffoni 140
 Rühl 135
 Ruoss, B. 167
 Ryschka, U. 4; 101; 102; 103; 104; 117; 120; 154; 170;
 171

—S—

Saarma 139
 Saarma, M. 147
 Sachs 36; 134; 136
 Sacristan 134
 Sandke, G. 3; 76
 Sangwan 139
 Sanikidse 139
 Sansavini 140
 Sapis, J. C. 156
 Sauer, A. 2; 21; 66
 Saur 93
 Schaefer 137
 Schäfer 114
 Schaller 7
 Scheewe, P. 24; 145; 160
 Schickedanz 25; 135; 160
 Schieder 134
 Schiemann 52; 134
 Schilde-Rentschler 78; 81; 82; 137
 Schilde-Rentschler, L. 167
 Schirmer 136
 Schlegel, H. 146; 161
 Schlenker 79; 135
 Schliephake, E. 3; 46; 52; 53
 Schmidt 136
 Schmidt, Anita 147
 Schmidt, D. 154
 Schmidt, H. 2; 15; 28; 29; 144; 145; 146; 149; 150; 158;
 159; 176
 Schmidt, K. 137

Schmidt, S. 3; 6; 75
 Schmidt, W. 155; 172
 Schneider, J. 24; 160
 Schneidereit, M. 18; 29
 Schnell, K.-F. 5
 Schnüber 134
 Schöber-Butin 77; 78; 81; 134
 Scholt, M. 168
 Scholz, M. 3; 83; 84; 151; 164
 Scholze, P. 4; 102; 106; 107; 115; 117; 154; 171
 Schönberger 135
 Schots 122; 141
 Schrader, O. 4; 112; 115; 120; 121; 122; 155; 172; 173;
 174
 Schreiber, H. 3; 74; 149; 150; 165; 166
 Schreyer 137
 Schröder, H. 7
 Schubert 44; 135
 Schubert, J. 2; 31; 33; 39; 40; 41; 42; 146; 160; 161
 Schubert, V. 150; 166
 Schüler 77; 78; 135
 Schüler, K. 151
 Schult, P. 14
 Schulze, J. 168
 Schum, A. 2; 6; 18; 25; 26; 43; 103; 145; 159
 Schumann, G. 4; 101; 102; 103; 104; 105; 120; 154;
 170; 171
 Schuster, M. 3; 71; 73; 74; 120; 150; 166
 Schütze 33; 136
 Schütze, U. 160
 Schütze, W. 4; 6; 109; 110; 118
 Schwarz, S. 5
 Seddig, S. 3; 82; 86; 87; 168
 Seehaus, H. 6; 25; 27
 Senula, A. 2
 Siemens 134
 Signoret, P. 148; 164
 Singh, M. 153
 Smits, M. 153
 Sobeck 120
 Sommer, C. 7
 Sonntag, K. 3; 81; 167
 Sorokin, A. 153
 Sorvari 138
 Sperling 83; 135
 Spethmann 20; 136
 Spiegel-Roy 140
 Stamova 138
 Stanarius, A. 147
 Stattmann, M. 4; 95; 153; 170
 Steffan, H. 5; 131
 Steinberger 136
 Steinbiss 136
 Stelling 135
 Stelling, D. 152; 169
 Stepahn, U. 154
 Stiekema 122
 Stielau, E. 21; 29
 Stöldt, A. 26; 145; 159
 Straka, P. 4; 6; 110; 115; 117; 118; 121; 155; 173
 Strelchenko, P. 98
 Stritzinger, P. 6
 Strolka, B. 145; 159; 160
 Strube 137
 Strube, H. 7
 Suckrau, I. 156
 Szegedi 125; 143

—T—

Tambov 142
 Tantau, H. 3; 87; 169
 Täufel 134
 Tebbe 134
 Theiler-Hedtrich 142
 Thieme, R. 3; 81; 82; 137; 167
 Thomann 134
 Thomsen, K.-K. 152
 Tiemann, H. 3; 6; 40; 45; 49; 80; 81; 114; 151; 167; 176
 Tillmann 52
 Timmann, E. M. 25
 Timmann, E.-M. 27
 Timpe, U. 2; 37; 146; 161
 Tjallingii 141
 Tjuterev 142
 Torrance, L. 147
 Trensck 134
 Treutter 68; 136
 Troshin 143
 Tschammer, J. 125; 157
 Tschartschwili 139

—U—

Ubach 141
 Uhrig 136
 Ullemeyer, H. 156
 Ulrich, D. 2; 4; 110; 113; 114; 116; 154; 172
 Urbitsch, F. 5

—V—

Valk, B. E. 153
 Van den Berg, G.C. 155
 van der Zwet 68
 van der Zwet, T. 143
 van Wyk 143
 Vanek 143
 Veldtmann 135
 Versini 140
 Versini, G. 157
 Vetten 41; 43
 Vetten, H. J. 148
 Vetten, H.J. 164
 Vogt, H. 2; 7
 Volkmann, C. 156
 Völksch 56; 136
 Von Kittlitz, E. 152
 Vrouzet, J. 156

—W—

Wackernagel 137
 Wackwitz 135
 Wagner, S. 157
 Walther, H. 4; 91; 92
 Walther, U. 3; 6; 59; 61; 62; 63; 149; 164; 165
 Weber, J. 2; 19; 145; 159; 160
 Webers 134
 Wedler, G. 5
 Wegener, C. 3; 89; 90; 152; 169
 Wenzel 136
 Wenzel, G. 4; 6; 81; 82; 84; 95; 96; 136; 152; 153; 154;
 170
 Wettstein, v. 90; 138
 Wiedemann 68; 69; 135

Wienand 135
 Wilcke 135
 Wildenhain 136
 Wilkins 85; 139
 Wilkova 142
 Wilkova 142
 Willmitzer 7; 90; 134
 Willmitzer, L. 7
 Willner 85; 135
 Winkelmann, T. 2; 17; 145; 160
 Winkler, T. 4; 122; 174
 Wobus 7
 Wolf 36; 62; 135
 Wolf, G. 146; 149; 161; 164
 Wolf, G. A. 146
 Wolf, G.A. 149; 161
 Wolfram, B. 3; 59; 68; 71; 74; 150; 166
 Wortmann 136
 Woylokow 83; 142
 Wricke 7; 83; 136
 Wricke, G. 7

—Y—

Yang, H. A. 146
 Yang, H. Y. 146
 Yavas, I. 156

—Z—

Zeiger, B. 155; 172
 Zelleke, A. 157
 Zeller 68; 134; 136
 Zeller, F. J. 153
 Zellner, B. 168
 Zielke, R. 2; 44; 45; 46; 147; 163
 Zimmer 7
 Ziyi, L. 138
 Züchner, S. 4
 Zyprian, E. 5; 124; 125; 127; 156; 157; 174; 175; 177

NOTIZEN

