BÖL

Bundesprogramm
Ökologischer
Landbau

Verminderung gefährlicher Alkaloide in der Nahrungskette durch die züchterische Verbesserung der Mutterkorn-Resistenz von Roggen

Reduction of dangerous alkaloids in the food chain by genetic improvement of ergot resistance in rye

FKZ: 03OE600

Projektnehmer:
Universität Hohenheim, Landessaatzuchtanstalt (720)
Fruwirthstrasse 21, 70599 Stuttgart
Tel.: +49 711 459-22690
Fax: +49 711 459-23841
E-Mail: miedaner@uni-hohenheim.de
Internet: http://www.uni-hohenheim.de

Autoren:
Miedaner, T; Daume, C.; Dänicke, S.; Schmiedchen, B.; Wilde, P.; Geiger, H.H.

Gefördert vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz
im Rahmen des Bundesprogramms Ökologischer Landbau (BÖL)

Dieses Dokument ist über http://forschung.oekolandbau.de unter der BÖL-Bericht-ID 15267 verfügbar.

UNIVERSITÄT HOHENHEIM
LANDESSAATZUCHTANSTALT
Arbeitsgebiet Roggen
apl. Prof. Dr. Thomas Miedaner

14.02.2007

Projekt-Nr. 03OE600 bzw. G 99/04 GFP

Abschlussbericht

Laufzeit des Projektes: 01.06.2004 – 28.02.2007

Berichtszeitraum: 01.06.2004 – 28.02.2007

Verminderung gefährlicher Alkaloide in der Nahrungskette durch die züchterische Verbesserung der Mutterkorn-Resistenz von Roggen

Künstliche Inokulation von männlich-sterilem Roggen mit Mutterkorn

Projektpartner:

Dipl. Ing. agr. Brigitta Schmiedchen, Lochow-Petkus GmbH, 14913 Petkus
Dr. Peer Wilde, Lochow-Petkus GmbH, 29296 Bergen
Dr. Sven Dänicke, FAL-Institut für Tierernährung 38116 Braunschweig

Sachbearbeiterin:

Dipl. Ing. agr. (FH) Carola Daume

Inhaltsangabe

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Bezug des Vorhabens zum Programm zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau 3
1.1 Planung und Ablauf des Projekts 3
1.2 Wissensstand, an den angeknüpft wird 4
2 Material und Methoden 5
3 Ergebnisse und Diskussion 10
3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse 10
3.1.1 Experiment 1: Genetische Ressourcen 10
3.1.1.1 Genetische Ressourcen: Eigenleistung 10
3.1.1.2 Genetische Ressourcen: Testkreuzungsleistung 10
3.1.2 Experiment 2: CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen 2004 und 2005 12
3.1.3 Experiment 3: CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen 2006 19
3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus; ggf. Angaben zur Erfindung/Schutzrechten; bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse 24
4 Zusammenfassung 25
5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlichen erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen 26
6 Literaturverzeichnis 28
7 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.) 29

1 Ziele und Aufgabenstellung des Projekts, Bezug des Vorhabens zum Programm zur Förderung von Forschungs- und Entwicklungsvorhaben sowie von Maßnahmen zum Technologie- und Wissenstransfer im ökologischen Landbau

Von den heimischen Getreidearten ist Roggen als Fremdbefruchter besonders anfällig für den Befall mit Mutterkorn, der durch die Infektion mit dem Schadpilz *Claviceps purpurea (Fr.)* Tul. hervorgerufen wird (Mielke 2000). Während eines Befalls zur Blüte bilden sich anstelle von Körnern schwarze Überdauerungsorgane (Sklerotien), die eine Vielzahl von Alkaloiden enthalten,die in der Nahrungs- und Futterkette enden die (Bausback 1976). Um gesundheitlichen Schäden vorzubeugen, wurde vom Gesetzgeber für Brotgetreide ein Grenzwert von 0,05 % Gewichtsanteil und für Futtergetreide ein Gewichtsanteil von 0,1 % Mutterkorn im Erntegut festgelegt. Bei Überschreitung dieser Werte ist beim Verkauf des Getreides mit erheblichen Abzügen zu rechnen. Sie können nach Betz et al. (1998) mehr als 2 €/dt betragen. Eine effiziente Entfernung der Sklerotien aus dem Ernte- oder Saatgut ist technisch möglich, aber unwirtschaftlich teuer (Mielke und Betz 1996). Ökologisch wirtschaftende Betriebe, selbstvermarktende Landwirte oder kleinere Genossenschaften können dies kaum leisten. Der Roggen ist aufgrund seiner guten Backeigenschaft sowie ausgeprägter Trockenresistenz und Stickstoffeffizienz jedoch ein unverzichtbarer Bestandteil der Fruchtfolge im ökologischen Landbau. Roggen wird zu 40-60% in der Tierfütterung eingesetzt. Mutterkornalkaloide können dabei zu schweren Gesundheitsstörungen bei allen Warmblütern führen. Deshalb ist es um so wichtiger, dass ein Befall mit Mutterkorn bereits durch den Anbau resistenter Sorten auf dem Feld verhindert wird.

Ziel dieses Projektes waren die Suche nach effektiven Resistenzträgern gegen Mutterkorn aus genetischen Ressourcen, die Aufklärung der Vererbung der Resistenz von selbstfertilen Roggenmaterialien sowie die Analyse der Wechselwirkungen von Wirtsgenotyp und Mutterkornpilz hinsichtlich der Zusammensetzung und Toxizität der Alkaloide.

1.1 Planung und Ablauf des Projekt

Das Projekt war auf eine Laufzeit von drei Jahren angelegt. Aufgrund der eingesparten Personalmittel konnte es um zwei Monate zur abschließenden Verrechnung unter Einbeziehung der aktuellen Alkaloiddaten verlängert werden.

Laufzeit: 01.01.2004 – 31.12.2006

Arbeitsschritte	2004				2005				2006			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Aussaatvorbereitungen, Aussaat												
Erstellung von Mutterkorn-Inokulum												
Künstliche Inokulation an 3 Standorten												
Merkmalserfassung im Feld												
Ernte und Reinigung des Erntegutes												
Erfassung des Gewichts an Sklerotien												
Erfassung der Alkaloidgehalte												
Fütterungsversuch												
Datenauswertung und Berichte												

1.2 Wissenschaftlicher und technischer Stand, an den angeknüpft wurde

Der Mutterkornpilz ist ein Blütenparasit, der bereits im zeitigen Frühjahr zahlreiche Gräserarten befällt. Sporen und Konidien gelangen auf die Narbe, keimen aus und dringen mittels Keimschlauch über den Blütenboden in den Fruchtknoten ein. Der Pilz zerstört das Innere und bildet Hyphengewebe, von dem Konidien abgeschnürt werden (Bausback 1976). Nach 7-10 Tagen scheiden die Ährchen zuckerhaltigen Honigtau, in den Sporen eingebettet sind, aus (Engelke 2002). Über Insekten werden diese asexuell gebildeten Konidien auf den Roggen übertragen. Roggenfelder waren teilweise so stark mit Mutterkorn belastet, dass sie nur nach mehrfacher kostenintensiver Reinigung als Brot- oder Futterroggen verwertet werden konnten (Engelke 2002). Die Mutterkorn-Anfälligkeit des Roggens ist auf das „offene" Blühen zurückzuführen, da der Erreger so leichter auf die Narben gelangen und Infektionen auslösen kann. Weizen wird als Selbstbefruchter kaum von Mutterkorn befallen (Mielke, 2000). Beim Roggen kommt es während der Blüte auf der Narbe zu einem Wettlauf zwischen Pollen und den Sporen des Mutterkornpilzes (Konidien), dabei gewinnt allzu häufig der Erreger (Mothers and Silber, 1952), vor allem, wenn zu wenig Pollen verfügbar ist. Bei Populationsroggen werden pro Ähre bis zu einer Million Pollenkörner für die Bestäubung ausgeschüttet (Miedaner, 1997). Nachdem Mutterkornepidemien im frühen Mittelalter einen großen Teil der Bevölkerung betrafen, bereitete der Pilz bis in die 1980er Jahre hinein nur geringe Probleme (Mielke 2000, Roth et. al. 1990). Erst mit Beginn und Ausweitung des Hybridroggenanbaus wurde wieder ein verstärkter Befall beobachtet (Weipert, 1996). Für Mielke (2000) und Betz et al. (1998) besteht auch ein Zusammenhang zwischen der Zunahme des Befalls und vermehrtem Abblühen von Gräsern an Feldrainen und Wegrändern, die als Wirtspflanze des Pilzes agieren und somit eine Sekundärinfektion der Roggenbestände begünstigen. Nach

Betz et al. (1998) wird der starke Befall des Hybridroggens durch die geringere Pollenschüttung und das daraus resultierende, länger dauernde Offenbleiben der Blütchen begründet. Da die Hybridzüchtung bei Roggen auf der Basis der cytoplasmatisch-genischen männlichen Sterilität (CMS) beruht, müssen nach erfolgter Kreuzung effektive, kerngesteuerte Restorergene für eine erneute Pollenschüttung sorgen (Geiger 1972). In der Vergangenheit waren die verwendeten, einheimischen Restorerquellen oft nur partiell wirksam (Geiger et al. 1995).
Mirdita (2006) konnte auch bei Populationssorten mit voller Pollenschüttung signifikante genotypische Unterschiede in der Anfälligkeit, wie auch eine große Genotyp x Umweltinteraktionsvarianz, finden. Dieser starke umweltbedingte Einfluss ist typisch für Pathosysteme mit quantitativer Resistenz.
Miedaner et al. (2003) wies darauf hin, dass in früheren Untersuchungen durch die Randomisation von Populations- und Hybridsorten fehlender Pollen aufgrund mangelnder Restaurationsleistung mit der genotypbezogenen Mutterkornanfälligkeit vermengt wurde. Deshalb wird in der vorliegenden Studie ausschließlich mit CMS-Material des Nichtrestorer-Formenkreises unter Isolationsbedingungen gearbeitet. Dies ermöglicht erstmals eine präzise Erfassung von genotypischen und umweltbedingten Unterschieden bezüglich der Anfälligkeit des Fruchtknotens und Blütenbodens nach dem Eindringen von Pilzsporen. Die männliche Sterilität dient hier natürlich nur als Testsystem. Es ist unumstritten, dass für die Praxis entwickelte Sorten eine maximale Pollenschüttung aufweisen sollten.

2 Material und Methoden

In dieser Studie sollte ein möglichst breites Sortiment an Roggengenotypen, mit dem Schwerpunkt auf aktuellem, selbstfertilen Nichtrestorer-Material, geprüft werden. Es wurden Linien und Kreuzungen von zwei verschiedenen Züchterfirmen sowie Genetische Ressourcen aus drei Herkünften auf ihre Mutterkornresistenz getestet. Die Linien und Kreuzungen der Jahre 2004 und 2005 unterschieden sich von dem Material des Jahres 2006. Aufgrund dieser Staffelung werden die Materialen im Folgenden in drei Experimente unterteilt (Tab.1).

Tab. 1: Zusammenstellung der Experimente und des Materials

Experiment	Materialgruppe	Abk.	Anzahl Genotypen	Umwelten[1]
Experiment 1	—Genetische Ressourcen—			
	Eigenleistung	GR1+2	40	PET04
	GR1 x Tester I	TGR1	11	
	GR1 x Tester II	TGR2	11	KHO05, PET05
	GR2 x Tester I	TGR3	29	
	GR2 x Tester III	TGR4	29	
	GR3 x Tester I	TGR5	15	
	GR3 x Tester II	TGR6	15	PET06, KHO06,
	GR4 x Tester I	TGR7	8	OLI06
	GR4 x Tester III	TGR8	8	
Experiment 2	—CMS- Linien und CMS-Einfachkreuzungen—			
	Liniensatz 1	L1	30	
	Liniensatz 2	L2	30	HOH04, PET04
	L1 x Bestäuberlinie 1	EK1	30	KHO05, PET05
	L2 x Bestäuberlinie 2	EK2	30	
	L2 x Bestäuberlinie 3	EK3	30	
Experiment 3	—CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen—			
	Liniensatz 3	L3	8	
	Liniensatz 4	L4	7	
	L3 x Bestäuberlinie 4	EK 4	8	PET06, KHO06,
	L3 x Bestäuberlinie 5	EK 4	8	OLI06
	L3 x Bestäuberlinie 6	EK 4	8	
	L4 x Bestäuberlinie 7	EK 5	7	
	L4 x Bestäuberlinie 8	EK 5	7	
	L4 x Bestäuberlinie 9	EK 5	7	

[1] Ort und Anbaujahr; PET=Petkus, HOH=Hohenheim, KHO=Kleinhohenheim, OLI=Oberer Lindenhof.

Experiment 1: Genetische Ressourcen 2004 - 2006

Genetische Ressourcen sind Roggenformen früherer Zeiten oder ausländischer Herkunft. Sie sind in der Regel nicht an unsere Produktions- und/oder Umweltbedingungen angepasst. Die Eigenleistung der Genetischen Ressourcen wurde 2004 während der Erstellung der Testkreuzungen am Standort Petkus erfasst. Jeweils elf Prüfglieder russischer und polnischer Herkunft (GR1) und 29 Prüfglieder aus Deutschland (GR2) wurden auf zwei CMS-Tester gekreuzt. Die Tester selbst waren sterile CMS-Einfachkreuzungen von der Lochow-Petkus GmbH. 2005 wurden diese 80 Testkreuzungen der Genetischen Ressourcen unter den Bedingungen des Ökologischen Landbaus als Blockanlage an den zwei Versuchsorten

Petkus und Hohenheim angebaut. Im Jahr 2006 wurden 46 Genetische Ressourcen, zusammengesetzt aus bereits im letzten Jahr geprüftem und neuem Material, an drei Versuchsorten (Petus, Kleinhohenheim, Oberer Lindenhof) geprüft. Die Auswahl dieser genetischen Ressourcen erfolgte nach Restorer-Index auf der Skala von 0-100. Nur Testkreuzungen, die mit beiden Testern einen Restorer-Index von < 5 hatten, wurden ausgewählt.

Experiment 2: CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen 2004 und 2005

In den beiden ersten Versuchsjahren wurden insgesamt 60 CMS-Linien (L) und 90 männlich-sterile Einfachkreuzungen (EK) auf Mutterkornresistenz geprüft (Tab.1). Letztere wurden im ersten Versuchsjahr durch die Kreuzung von CMS-Linien und drei Bestäuberlinien im Normal-Cytoplasma, erstellt (Topcross-Verfahren). Daraus ergaben sich zwei Liniensätze und drei Sätze von Einfachkreuzungen. CMS-Liniensatz 1 (L1) mit Material der Lochow-Petkus GmbH wurde mit einer Linie gekreuzt (EK1), Liniensatz 2 (L2) enthielt Material der Hybro Saatzucht GmbH & Co. KG und wurde mit zwei anderen Bestäuberlinien angepaart (EK2, EK3). Da sowohl die Linien im CMS-induzierenden-Cytoplasma als auch die Bestäuberlinien Nichtrestorergenotypen darstellten, waren die entstandenen Einfachkreuzungen vollständig männlich steril. Die CMS-Linien wurden als ein 8 x 8-Gitter mit drei Wiederholungen und Standards und die Einfachkreuzungen in drei Sätzen in jeweils einem 5 x 6-Gitter mit drei Wiederholungen angebaut. Diese vier Teilblöcke wurden als Großteilstücke in einer Split-Plot-Anlage randomisiert, die Genotypen dienten als Kleinteilstücke.

Experiment 3: CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen 2006

Im Jahr 2006 wurden an drei Versuchsorten (Petkus, Oberer Lindenhof und Hohenheim) 15 andere CMS-Linien und 45 CMS-Einfachkreuzungen in drei Wiederholungen unter den gleichen Bedingungen wie 2004 und 2005 angebaut (Tab.1). Liniensatz 3 entsprach acht CMS-Linien, die mit drei Nichtrestorer-.Linien des Petkuser Formenkreises gekreuzt 24 CMS-Einfachkreuzungen ergaben (EK4). Gleichermaßen wurden für einen weiteren Satz sieben CMS-Linien mit drei anderen NR-Linien gekreuzt (=21, EK5 CMS-Einfachkreuzungen). Die CMS-Linien wurden zusammen als 4 x 4-Gitter und die Kreuzungen als 7 x 7-Gitter als Split-Plot Anlage angelegt.

Die Prüfglieder aller Experimente wurden in sechsreihigen Mikroparzellen von 1,5 m² angebaut, wobei jeweils zwei Reihen der Parzelle aus dem Prüfglied und drei Reihen aus Weizen (2004) bzw. Triticale (2005/2006) als Abtrennung bestanden. Dazwischen befand sich eine Leerreihe. Der Wechsel von Prüfgliedern und Trennreihen wurde schachbrettartig angelegt und diente zur Abschirmung der Prüfglieder vor dem gegenseitigen Verschmieren der Ähren mit Honigtau des Pilzes. Zur Vermeidung unkontrollierter Bestäubung wurden die einzelnen

Materialgruppen mit breiten Weizen- bzw. Triticalerändern eingefasst und isoliert von anderen, stäubenden Roggenschlägen angebaut.

Im Jahr 2004 wurden die Versuche in Petkus unter ökologischen Bedingungen angebaut, in Hohenheim wurde auf N-Düngung und Pflanzenschutzmittel verzichtet. In den Jahren 2005 und 2006 konnten an allen Standorten Flächen aus ökologischer Bewirtschaftung genutzt werden. Die Beikrautregulierung erfolgte durch regelmäßiges Hacken und Jäten. Im Jahr 2006 wurde an allen drei Standorten der organische Stickstoffdünger Bioilsa® eingesetzt. Zu Beginn der Vegetationsphase (BBCH 13) wurden die Linie und Einfachkreuzungen auf 30 kg N/ha aufgedüngt, zu Beginn des Schossens (BBCH 30) wurden bei den Linien, die generell wuchsschwächer sind, weitere 30 kg N/ha gegeben. Die ökologischen Standortbedingungen können Tabelle 2 entnommen werden.

Tab. 2: Ökologische Standortbedingen der Versuchsorte

Charakterisierung	**Kleinhohenheim (KHO)**	**Oberer Lindenhof (OLI)**	**Petkus (PET)**
Bundesland	Baden-Württemberg	Baden Württemberg	Brandenburg
Landschaft	Filderebene	Schwäbische Alb	Niederer Fläming
Höhe über NN (m)	440	700	145
Jährlicher Niederschlag (mm)	700	952	596
Mittlere Jahrestemperatur (°C)	8,2	6,6	8,1

Inokulation und Merkmalserfassung

Die Herstellung des Inokulums für alle drei Experimente wurde bereits ausführlich beschrieben (Mirdita 2006). Die Infektion der Versuche erfolgte mit einem Isolategemisch des Pilzes *Claviceps purpurea*. Die Konzentration der Konidiensuspension wurde anhand einer Thoma-Zählkammer auf 3 x 10^6 Konidien/ml eingestellt. Pro Quadratmeter der Versuchsfläche wurden 100 ml Suspension verwendet. Die Parzellen wurden mittels einer Rückenspritze dreimalig zur Vollblüte (BBCH 65) im Abstand von drei Tagen inokuliert. Die Materialgruppen Linien und Einfachkreuzungen bzw. die Testkreuzungen der Genetischen Ressourcen wurden entsprechend ihres optimalen Blühtermins zu unterschiedlichen Terminen inokuliert, die Genotypen innerhalb einer Gruppe aber immer gleichzeitig, um eine maximale Vergleichbarkeit zu gewährleisten.

In allen Jahren wurden die Ähren je Parzelle auf dem Feld gezählt, zur Gelbreife (BBCH 77) von Hand geerntet und bis zur Gleichgewichtskonstanz getrocknet. Im Jahr 2004 wurden zusätzlich die Spindelstufen von 20 zufällig entnommen Ähren je Parzelle gezählt. Nach vorsichtigem Drusch aller Ähren wurden die Roggenkörner, die sich trotz Isolationsbedingungen gebildet hatten, aussortiert und die Sklerotien gewogen. Als Resistenzmerkmale wurde bei den CMS-Linien und deren korrespondierenden Kreuzungen die Anzahl der Spindelstufen je Ähre (MKS) und das Mutterkorngewicht je Ähre (MKÄ) erfasst. Da die Anzahl der Spindelstufen sehr eng mit dem Mutterkorngewicht je Ähre korrelierte (s. 1. Zwischenbericht), wurde 2005 und 2006 auf deren Auszählung verzichtet und nur der Mutterkornertrag je Ähre (MKÄ) bestimmt. Obwohl alle Genetischen Ressourcen im Mittel einen niedrigen Restorer-Index zeigten, stäubten 2005 einige Einzelpflanzen. Dies führte zu Kornansatz der Genetischen Ressourcen. Als Merkmal wurde dementsprechend im Jahr 2005 der Prozentuale Mutterkornanteil am Gesamterntegut (PMK) ausgewertet. Im Jahr 2006 wurde das Mutterkorngewicht je Ähre ausgewertet.

Für die Alkaloidanalyse wurde in den Jahren 2005 und 2006 der für Mutterkornbefall am besten differenzierende Liniensatz herangezogen. Dabei wurden in 2005 aus dem 1. Liniensatz 25 CMS-Linien in zwei Wiederholungen von beiden Orten ausgewählt und jeweils 10 g Mutterkornsklerotien entnommen, die am Institut für Tierernährung, Bundesforschungsanstalt für Landwirtschaft (FAL), Braunschweig (PD Dr. S. Dänicke) auf Alkaloidgehalt und -muster untersucht wurden. Im Jahr 2006 wurden acht Linien (L3) und die 24 Einfachkreuzungen des Satzes 4 in zweifacher Wiederholung an zwei Orten analysiert. Die Gehalte der Alkaloide Ergometrin, Ergotamin, Ergocornin, Ergocryptin, Ergocristin und Ergosin und ihrer Isomere *(-inin*-Formen) wurden mit einer HPLC-Analyse nach Wolff et al. (1988) bestimmt. Um den Laborfehler zu minimieren, wurden alle Prüfglieder als Doppelprobe bearbeitet.

Die erhobenen Daten der drei Experimente wurden mit dem Statistikprogramm PLABSTAT (Utz, 2000) verrechnet. Basis waren jeweils die Parzellenmittelwerte. Zuerst wurden die einzelnen Umwelten als Gitter und anschließend die Serie über Umwelten anhand der gitteradjustierten Mittelwerte varianzanalytisch verrechnet. Um Merkmale mit sehr unterschiedlichen Mittelwerten bzw. Einheiten vergleichen zu können, erfolgte eine Umrechnung der Varianzkomponenten (σ^2) in Variationskoeffizienten (CV%) nach folgender Formel: ($\sqrt{\sigma}^2$/Mittelwert) x 100. Die Daten der Resistenzmerkmale Mutterkorngewicht je Ähre (MKÄ) und der Gesamtalkaloidgehalt (GA) waren nicht normalverteilt. Deshalb wurden diese natürlichen Zahlen einer Log-Transformation unterworfen, um Skaleneffekte zu minimieren. Prozentuale Zahlen, wie der Prozentuale Mutterkornanteil am Gesamterntegut der Genetischen Ressourcen (PMK) wurden anhand einer Logit-Transformation angepasst. Trotz dieser Transformationen sind die Daten nicht vollständig linear, die F-Tests gelten deshalb nur approximativ.

3 Ergebnisse und Diskussion

3.1 Ausführliche Darstellung der wichtigsten Ergebnisse

3.1.1 Experiment 1: Genetische Ressourcen

3.1.1.1 Eigenleistung

Im Jahr 2004 wurde die Eigenleistung der Genetischen Ressourcen, die als Bestäuber für die Testkreuzungen dienten, geprüft. In Tabelle 3 sind die Merkmale nach Herkunft der Genetischen Ressourcen aufgeführt. Blühzeitpunkt und Antherenbonitur wiesen ähnliche Werte zwischen den Gruppen auf. Die Genetischen Ressourcen deutscher Herkunft hatten eine deutlich geringere Wuchshöhe als russischen und polnischen Populationen.

Tab. 3: Mittlere Wuchshöhe, Blühzeitpunkt und Antherenbonitur der Genetischen Ressourcen, erfasst in Petkus 2004

Material-beschreibung	Herkunft	N	Wuchshöhe		Datum Vollblüte	Antheren-bonitur
			Mittel	Spannweite		
			---------- cm ----------			-- 1-9a --
GR 1	Weißrussland/ Polen	11	152	143-160	30.05.	8,9
GR 2	Deutschland	29	136	113-148	31.05.	8,3

[a] 1= männlich steril, 9 = voll stäubend.

3.1.1.2 Testkreuzungsleistung 2005 und 2006

Im Jahr 2005 wurden die Testkreuzungen der Genetischen Ressourcen in Petkus und Kleinhohenheim angebaut. Da der Versuch an letztgenanntem Ort keinen ausreichenden Mutterkornbefall zeigte, konnten diese Daten nicht ausgewertet werden. In Petkus wurde ein hoher Befall aller Prüfglieder verzeichnet. Als Merkmal wurde der Prozentuale Mutterkornanteil am Gesamterntegut (PMK) ausgewertet (Tab. 4). Die Ergebnisse zeigen den Einfluss der Tester auf den Mutterbefall. Tester I, der mit den Genetischen Ressourcen russisch/polnischer (GR1) und deutscher Herkunft (GR2) gekreuzt wurde, hatte ähnliche Mittelwerte und genotypische Spannweiten. Die beiden anderen Testkreuzungsserien (GR1xTester II, GR2xTester III) zeigten höhere Werte. Die größte genotypische Variation, aber auch die höchste Grenzdifferenz, hatten die Kreuzungen mit Tester III.

Tab. 4: Mittelwerte, genotypische Spannweite und Grenzdifferenz des Prozentualen Mutterkornanteils am Gesamterntegut von 80 Testkreuzungen der Genetischen Ressourcen in Petkus 2005

Material	N	Mittel	Genotyp. Spannweite	$GD_{5\%}$
		----------%		----------
GR1xTester I	11	7,5	3,1 – 11,5	3,1
GR1xTester II	11	8,5	2,1 – 20,1	6,9
GR2xTester I	29	7,9	3,5 – 13,6	7,0
GR2xTester III	29	9,7	3,9 – 14,9	9,9

$GD_{5\%}$= Grenzdifferenz bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5 %

Die Genetischen Ressourcen russischer/polnischer Herkunft (GR1) zeigten im Vergleich zu denen deutscher Herkunft (GR2) eine signifikante genotypische Variation und einen geringeren Versuchsfehler (Tab. 5). Die Wiederholbarkeiten lagen bei beiden Testkreuzungen im mittleren Bereich. Die genetische Varianz des deutschem Materials war nicht signifikant.

Tab. 5: Schätzwerte der genetischen Varianzkomponenten[1] für den Prozentualen Mutterkornanteil am Gesamterntegut (PMK) der Genetischen Ressourcen (GR) in Petkus 2005

Parameter	GR 1			GR 2		
	FG	Tester I	Tester II	FG	Tester I	Tester III
Varianzursache						
Wiederholung	2	0,17**	0,03	2	0,07	0,02
Genotyp	10	0,12**	0,33**	28	-2	-2
Fehler	20	0,11	0,25	56	0,55	0,72
Wiederholbarkeit		0,61	0,56		0	0

[1] Transformierte Werte.

[2] Negativer Schätzwert.

Die im Jahr 2006 angebauten Testkreuzungen mit Genetischen Ressourcen, die aufgrund ihres niedrigen Restorer-Indexes ausgewählt wurden, wiesen bei polnischer und russischer Herkunft (GR3) für beide Tester geringere Werte für das Merkmal Mutterkorngewicht je Ähre als die Genetischen Ressourcen deutscher Herkunft (Tab.6). Die Testkreuzung mit Tester III hatte den geringsten mittleren Befall auf (Tab.6). Die Genetischen Ressourcen deutscher Herkunft (GR3) zeigten mit beiden Testern ähnliche Mittelwerte und Spannweiten für das Mutterkorngewicht je Ähre (Tab. 6)

Tab. 6: Mittelwerte und genotypische Spannweite des Mutterkorngewichts je Ähre über eine Umwelten (GR3)[1] bzw. drei Umwelt (GR4) in 2006

	GR 3 (N= 16)		GR 4 (N= 30)	
	Tester I	Tester II	Tester I	Tester III
	[g Mutterkorn / Ähre]			
Mittel	0,32	0,26	0,39	0,39
Spannweite	0,24 – 0,40	0,17 – 0,39	0,27 – 0,51	0,30 – 0,48

[1] Erfasst am Standort Oberer Lindenhof.

3.1.2 Experiment 2: CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen 2004 und 2005

In Hohenheim führte die künstliche Inokulation 2004 zu einem erheblichen Befall mit Mutterkorn, in Petkus ergab sich in beiden Jahren ein mittlerer Befall (Tab. 7). Im Jahr 2005 konnte in Kleinhohenheim trotz dreimalig durchgeführter Inokulation kein ausreichender Befall erzielt werden. Im Folgenden werden demzufolge die Ergebnisse aus den Versuchen Hohenheim'04 (HOH'04), Petkus'04 (PET'04) und Petkus'05 (PET'05) gegeben. In Hohenheim 2004 lagen die Mittelwerte für den Mutterkornbefall zwei- bis dreifach höher als in Petkus. Zwischen den beiden Sätzen von CMS-Linien war über zwei Jahre kein Unterschied feststellbar. Die CMS-Einfachkreuzungen zeigten im Jahr 2004 und 2005 einen höheren mittleren Befall als die korrespondierenden CMS-Linien.

Tab. 7: Mittelwerte für das Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ) für zwei Liniensätze, 3 Sätze der Einfachkreuzungen und der jeweiligen Bestäuberlinien, erfasst in Hohenheim (HOH) und Petkus (PET); N= Anzahl der Genotypen

Materialgruppe	N	HOH'04	PET'04	PET'05
		g		
SATZ 1:				
Liniensatz 1	30	0,331	0,105	0,106
Einfachkreuzungen 1	29	0,519	0,215	0,194
Bestäuberlinie 1	3	0,313	0,054	0,051
SATZ 2:				
Liniensatz 2	30	0,340	0,102	0,120
Einfachkreuzungen 2	29	0,334	0,146	0,131
Bestäuberlinie 2	3	0,229	0,097	0,081
SATZ 3:				
Liniensatz 2[1]	30	0,340	0,102	0,120
Einfachkreuzungen 3	29	0,448	0,168	0,273
Bestäuberlinie 3	3	0,226	0,015	0,067

[1] Identisch mit Linien in SATZ 2.

Im Vergleich der drei Sätze zeigten die Bestäuberlinien deutliche Unterschiede im Resistenzniveau (Abb.1). Interessanterweise waren die Kreuzungen in allen drei Sätzen anfälliger gegen Mutterkorn als das Elternmittel aus CMS-Linien und Bestäuberlinien hätte erwarten lassen, besonders ausgeprägt in Satz 1 und 3. Diese höhere Befall könnte mit dem biotrophen Charakter des Mutterkornerregers zusammenhängen. Durch die größere Wüchsigkeit und physiologische Aktivität der CMS-Einfach-kreuzungen stehen dem Pilz mehr Assimilate zur Verfügung, die dann zu entsprechend höheren Mutterkorngewichten führen. Außerdem hatten die Kreuzungen deutlich längere Ähren. Mehr Blütchen können natürlich unter den

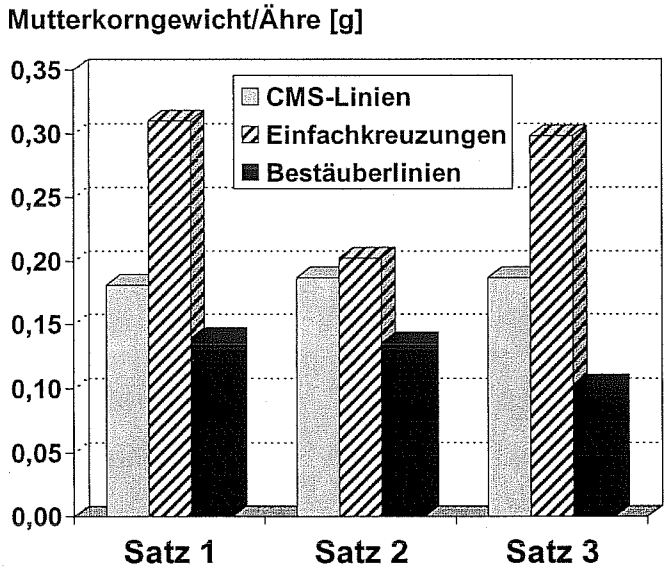

Abb.1: Mittleres Mutterkorngewicht der CMS-Linien (=Mütter), der Bestäuberlinien (=Väter) und ihrer Einfachkreuzungen in drei Sätzen, gemittelt über drei Umwelten

extremen Bedingungen des fehlenden Pollens auch zu deutlich mehr Sklerotien führen. Eine genetische Erklärung wäre eine Verwandtschaft der Kreuzungspartner, da die Ausgangslinien aus dem Petkuser Formenkreis stammten. Da die Linien jedoch von mehreren Züchterhäusern kamen, ist dies eher unwahrscheinlich.

Das gesamte CMS-Material zeigte für das Merkmal Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ) eine quantitative Verteilung und eine breite Variation (Abb. 2). Alle Kreuzungen mit Bestäuberlinie 2 waren deutlich resistenter als die anderen Einfachkreuzungen, obwohl Bestäuberlinie 3 *per se* eine etwas geringere Anfälligkeit hatte und beide Bestäuberlinien mit denselben CMS-Linien geprüft wurden.

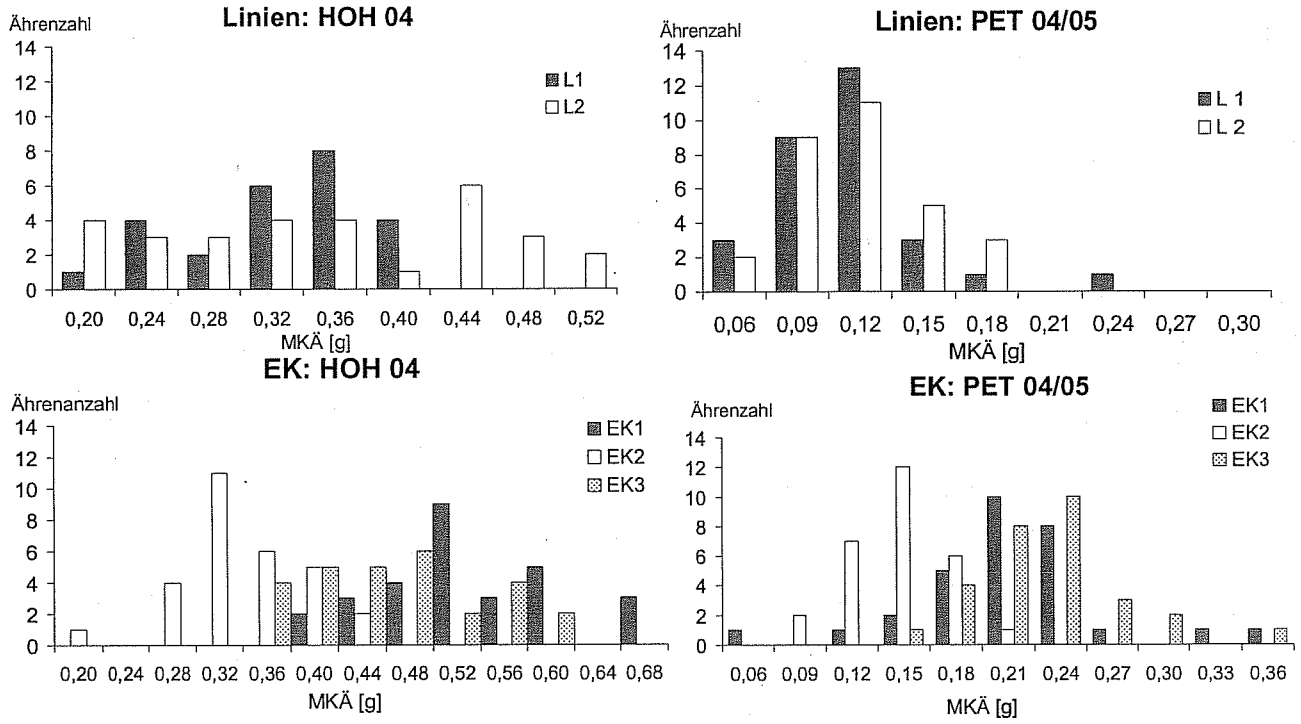

Abb.2: Häufigkeitsverteilung der beiden Liniensätze (L1, L2) und korrespondierenden Einfachkreuzungssätzen (EK1, EK2, EK3) für das Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ) in Hohenheim (HOH) 2004 sowie Petkus (PET) 2004 und 2005

Die genotypischen Unterschiede zwischen den CMS-Linien waren in den einzelnen Umwelten signifikant (Tab.8). Die meisten Variationskoeffizienten der Einfachkreuzungen waren, wie erwartet, in beiden Jahren niedriger als die der Linien. Die Serienverrechnung ergab bei den Einfachkreuzungen eine geringere genotypische Varianz, sie zeigten seltener genotypische Signifikanz. Die Genotyp x Umwelt-Interaktionsvarianz war hoch. Über alle drei Jahre ergab sich eine ähnliche genotypische Varianz, aber niedrige Heritabilitäten, weil die Bedeutung der Genotyp x Umwelt-Interaktionsvarianz zunahm. Wenn die Serienverrechnung nur über die beiden Jahre in Petkus erfolgte, ist die Heritabilität nicht höher als wenn Hohenheim'04 eingeschlossen wird.

Tab.8: Schätzwerte der Varianzkoeffizienten (%)[1], Wiederholbarkeiten und Heritabilitäten für Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ), Einzelort- und Serienverrechnung (L=CMS-Linie, B=Bestäuberlinie, FG=Freiheitsgrade)

Umwelt	FG	SATZ 1		SATZ 2		SATZ 3
Parameter		L1	L1 x B1	L2	L2 x B2	L2 x B3
Hohenheim'04						
Wiederholung	2	4,91**	-[2]	8,25**	1,32	-[2]
Genotyp	29	5,89**	3,80**	8,89**	3,49*	4,41**
Fehler	58	4,46	3,68	4,97	7,29	3,69
Wiederholbarkeit		0,64	0,52	0,77	0,19	0,59
Petkus'04						
Wiederholung	2	6,08*	15,21**	6,22**	11,94**	10,45**
Genotyp	29	15,58**	8,18**	17,93*	1,47*	17,72**
Fehler	58	16,81	10,62	16,11	11,84	10,31
Wiederholbarkeit		0,46	0,37	0,55	0,19	0,60
Petkus'05						
Wiederholung	2	4,29*	7,79**	4,97**	6,54**	-[2]
Genotyp	29	10,67**	4,33+	11,98**	9,29*	8,08**
Fehler	58	15,57	9,22	12,03	15,90	5,60
Wiederholbarkeit		0,32	0,18	0,50	0,26	0,68
Serie PET'04/'05						
Umwelt (U)	2	1,66	20,40**	6,15**	3,34*	24,43**
Genotyp (G)	29	10,03*	2,50	12,64**	5,48+	6,65+
G x U	58	9,13*	15,32**	8,25**	5,41+	8,79**
Fehler	174	9,52	3,88	7,87	7,98	5,16
Heritabilität		0,54	0,25	0,71	0,39	0,46
Serie 3 Umwelten						
Umwelt (U)	2	26,07**	17,72**	25,24**	19,22**	17,18**
Genotyp (G)	29	6,47**	3,25*	10,15**	3,22	4,71+
G x U	58	8,02**	4,01**	7,26**	5,17**	9,11**
Fehler	174	6,88	4,37	5,90	6,55	4,72
Heritabilität		0,53	0,47	0,78	0,31	0,39

+, *, ** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von P = 0,1; 0,05; 0,01.

[1] Berechnung der Variationskoeffizienten erfolgte mit transformierten Werten.

[2] Negativer Schätzwert.

Zwischen den CMS-Linien und ihren korrespondierenden Einfachkreuzungen wurden für Mutterkorngewicht je Ähre über drei Umwelten signifikante (P=0,01) mittlere phänotypische Korrelationen ermittelt (Abb. 3). Die genotypischen Korrelationen waren deutlich höher.

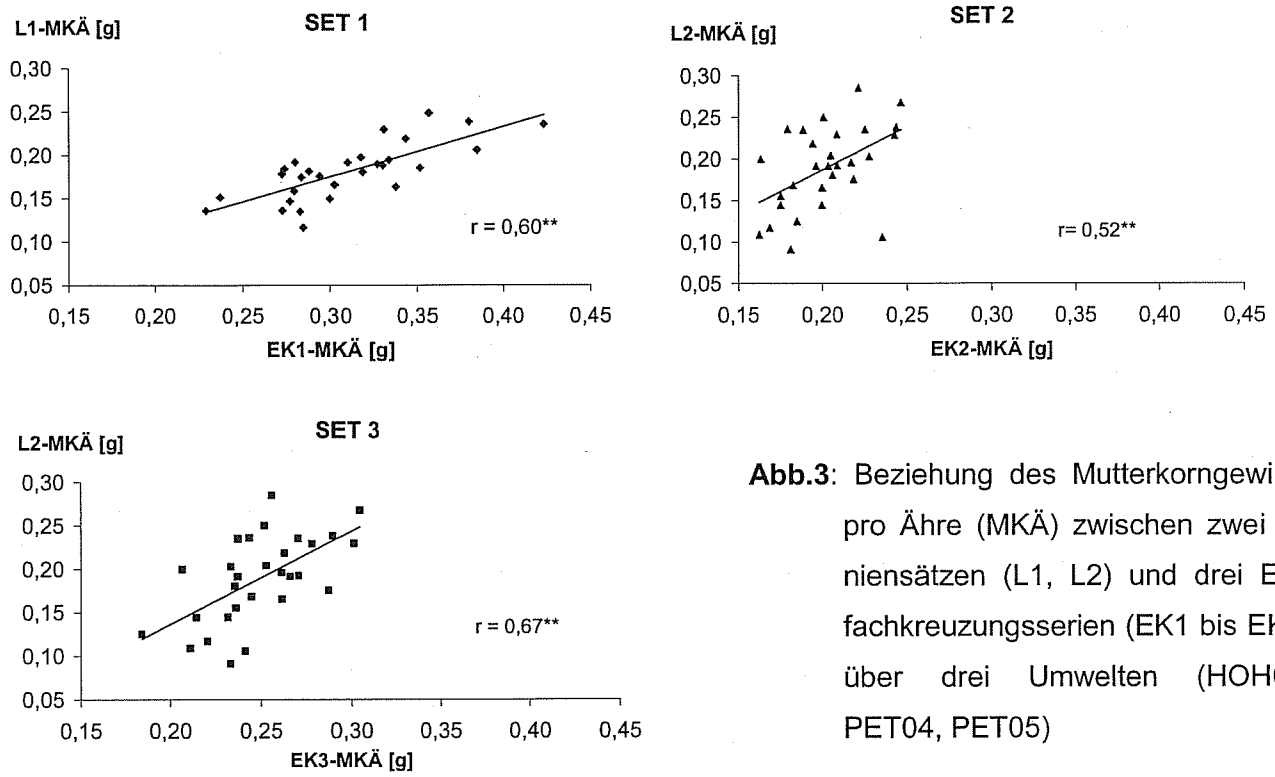

Abb.3: Beziehung des Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ) zwischen zwei Liniensätzen (L1, L2) und drei Einfachkreuzungsserien (EK1 bis EK3) über drei Umwelten (HOH04, PET04, PET05)

Tabelle 9 zeigt anhand der gemeinsamen Linien innerhalb der drei Sätze den Einfluss der Bestäuberlinien auf den Mutterkornbefall. Bestäuberlinie 2 hatte mit 0,22 g das niedrigste mittlere Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ), Bestäuberlinie 3 zeigte das höchste mittlere MKÄ mit 0,34 g. Bei den Linien hatte L327-P den niedrigsten Wert mit 0,26 g, die Linie L326-P zeigte den höchsten mittleren Befall mit einem Wert von 0,32 g.

Tab.9: Mittelwerte für Mutterkorngewicht pro Ähre (MKÄ) über vier gemeinsame Linien innerhalb der 3 Sätze, erfasst über drei Umwelten (HOH04, PET04, PET05)

Vater	**Mutter**				**Mittel**
	L145-P	L313-P	L326-P	L327-P	
	g				
Bestäuber 1	0,278	0,277	0,401	0,273	0,307
Bestäuber 2	0,209	0,219	0,226	0,204	0,215
Bestäuber 3	0,391	0,328	0,322	0,314	0,339
Mittel	0,293	0,275	0,316	0,264	0,287

Für die Alkaloidanalyse im Jahr 2004 und 2005 wurden 25 gut differenzierende CMS-Linien aus dem Liniensatz 1 ausgewählt. 2005 wurden zusätzlich die 25 korrespondierenden Einfachkreuzungen untersucht (Tab. 10). Aus Kostengründen wurden in beiden Jahren nur zwei Wiederholungen mit jeweils zwei Doppelproben analysiert. Letztere korrelierten in beiden Jahren sehr eng (r=0,90; P=0,01).

Tab.10: Mittelwerte von sechs Mutterkornalkaloiden, der Summe ihrer Isomereund der Gesamtalkaloidgehalt, ergänzt durch Mittelwerte des Mutterkorngewichtes je Ähre (MKÄ) von 25 CMS-Linien und 25 CMS-Einfachkreuzungen über zwei bzw. ein Jahr in Petkus (PET)

Merkmal	**CMS-Linien**			**CMS-Einfach-kreuzungen**
	PET'04	PET'05	Mittel	PET'05
	----------[µg/g Mutterkorn]----------			
Mutterkornalkaloide:				
Ergometrin	27,0	79,5	53,3	48,9
Ergotamin	144,4	146,1	145,3	131,0
Ergocornin	39,2	119,6	79,4	89,9
Ergocryptin	37,4	89,3	63,3	78,0
Ergocristin	96,9	309,5	203,2	185,8
Ergosin	106,6	319,3	213,0	198,3
Summe Isomere[1]	137,4	232,1	184,8	225,3
Gesamtalkaloidgehalt[2]	589,6	1295,5	942,6	957,0
MKÄ [g]	0,11	0,11	0,11	0,21

[1] Summe der sechs Alkaloidisomeren.

[2] Summe der 12 analysierte Alkaloide.

Die 25 CMS-Linien und Einfachkreuzungen zeigten sowohl für MKÄ als auch für den Gesamtalkaloidgehalt eine quantitative Merkmalsverteilung (Abb. 4). Die genotypische Varianz der Mutterkornresistenz (MKÄ) des untersuchten Materials war signifikant ($P \leq 0{,}01$, s. Tab. 8).

Sowohl die einzelnen Alkaloide als auch der Gesamtalkaloidgehalt der CMS-Linien wiesen erhebliche Unterschiede zwischen den Genotypen auf, die jedoch aufgrund des großen Restfehlers nicht oder nur schwach signifikant ($P \leq 0{,}1$) waren. Die genotypischen Unterschiede der Alkaloideinzel- und Gesamtgehalte der Einfachkreuzungen waren dagegen nicht signifikant ($P > 0{,}1$). Die Gehalte der CMS-Einfachkreuzungen waren um ein Viertel geringer als die Gehalte der CMS-Linien, zeigten aber doppelt so hohe Mutterkorngewichte je Ähre.

Zwischen dem Mutterkorngewicht je Ähre und dem Gesamtalkaloidgehalt der Linien in 2004 war nur eine nichtsignifikante Korrelation (r= 0,20) zu verzeichnen. Auch im Jahr 2005 korrelierten diese beiden Merkmale bei Linien und Einfachkreuzungen nicht signifikant (r=0,05 bzw. 0,10).

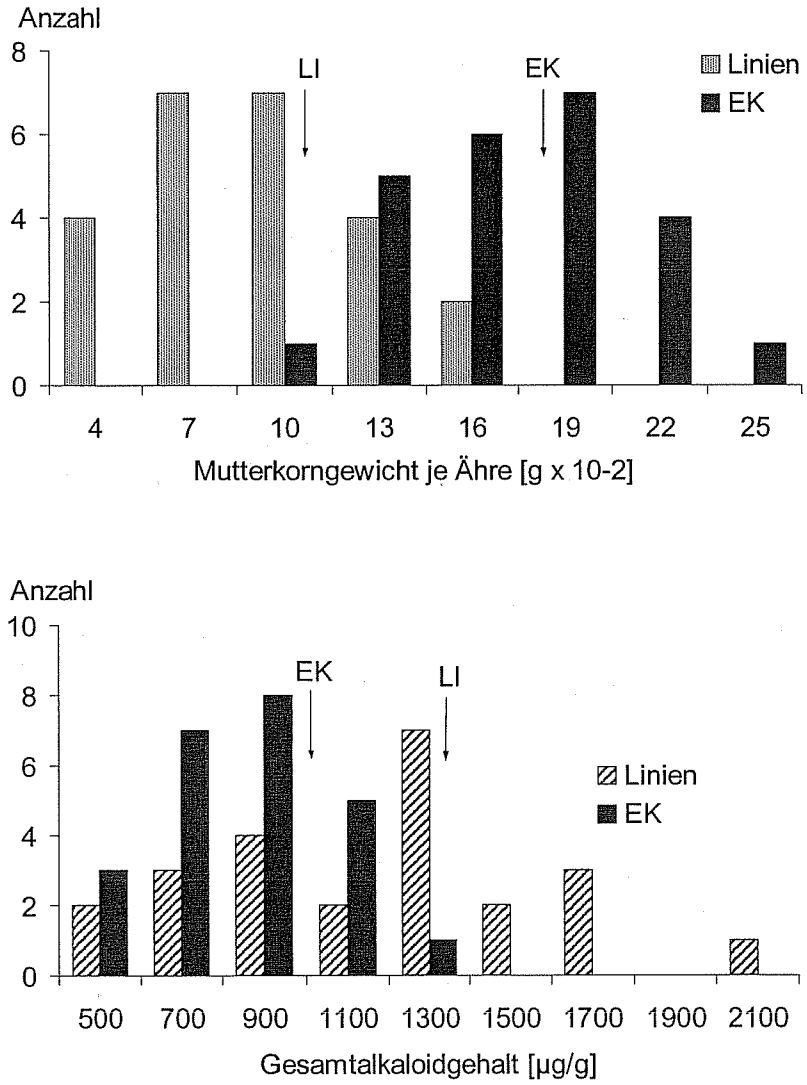

Abb. 4:
Häufigkeitsverteilungen des Mutterkorngewichts je Ähre *(oben)* und des Gesamtalkaloidgehaltes *(unten)* von 25 CMS-Linien und ihrer korrespondierenden 25 CMS Einfachkreuzungen Petkus 2005; das Mittel der jeweiligen Materialgruppe ist durch Pfeile gekennzeichnet.

LI=Linien, EK=Einfachkreuzungen; Gesamtalkaloidgehalt = Summe aller sechs Alkaloide und deren sechs Isomere

Das Alkaloidmuster des Materials des Standortes Petkus über zwei Jahre (siehe Tab. 10) setzte sich bei einem mittleren Gesamtalkaloidgehalt von 942,55 µg/g Mutterkorn wie in Abb. 5 gezeigt zusammen. Das Alkaloidmuster der CMS-Linien sowie die Gehalte der Einfachkreuzungen unterschieden sich nicht wesentlich.

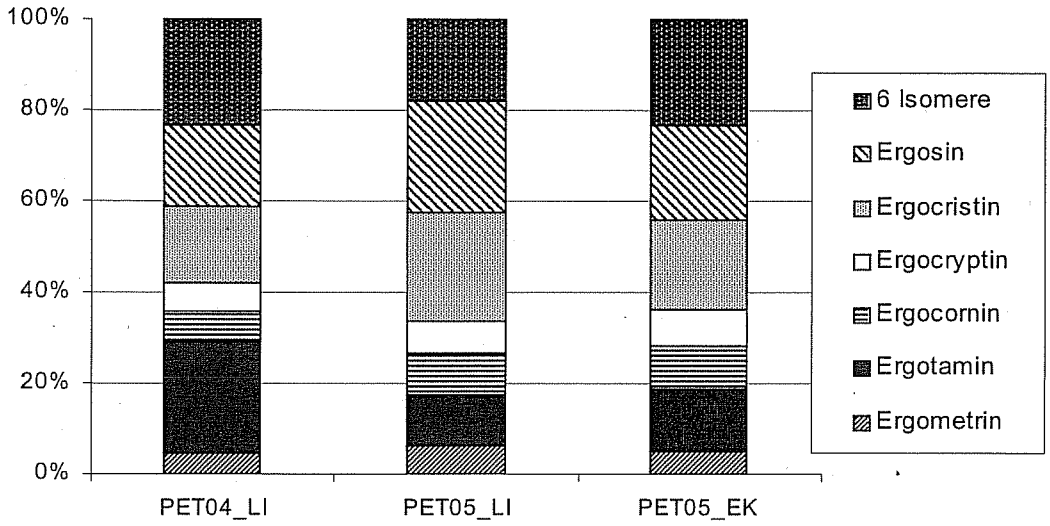

Abb. 5: Prozentuale Verteilung der Einzelalkaloide von 25 CMS-Linien (LI) und 25 CMS-Einfachkreuzungen (EK) in den Jahren 2004 und 2005 in Petkus (PET04, PET05)

3.1.3 Experiment 3: CMS-Linien und CMS-Einfachkreuzungen 2006

Im Jahr 2006 wurde den Standorten Petkus (PET), Kleinhohenheim (KHO) und Oberer Lindenhof (OLI) gute Inokulationsraten verzeichnet. In Petkus war das Mittel des Mutterkorngewichts der 15 CMS-Linien jedoch doppelt so hoch wie an den Standorten Hohenheim und auf dem Oberen Lindenhof (Tab.11). Die 45 Einfachkreuzungen zeigten an alle drei Standorten ähnliche Mittelwerte und Spannweiten. Im Vergleich zu den Linien zeigten die korrespondierenden Kreuzungen bis zu vierfach höhere Mittelwerte. Die genotypischen Variationskoeffizienten der Linien war nur an den Standorten Petkus und Hohenheim signifikant. Die Kreuzungen zeigten an allen drei Standorten hochsignifikante Unterscheide (P=0,01; s. Tab. 11). Die Wiederholbarkeiten waren an allen Standorten mittel bis hoch.

Tab.11: Mittelwerte (MW), Spannweite und genotypischer Variationskoeffizient (VK%)[1] des Merkmals Mutterkorngewicht je Ähre von 15 CMS-Linien und 45 CMS-Einfachkreuzungen

Parameter	Material	PET'06	KOH'06	OLI'06
MW [g/Ähre]	Linien	0,21	0,08	0,12
	Einfachkreuzungen	0,37	0,36	0,26
Spannweite [g/Ähre]	Linien	0,14 - 0,38	0,03 - 0,20	0,08 - 0,19
	Einfachkreuzungen	0,21 - 0,51	0,16 - 0,63	0,16 - 0,56
VK %	Linien	9,10**	33,33*	-[2]
	Einfachkreuzungen	8,08**	6,04**	3,71**
Wiederholbarkeit	Linien	0,78	0,64	-[2]
	Einfachkreuzungen	0,56	0,60	0,50

*, ** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von P = 0,05; 0,01.
[1] Berechnung der Variationskoeffizienten erfolgte mit transformierten Werten.
[2] Negativer Schätzwert.

Über zwei bzw. drei Umwelten (Tab. 12) waren die Variationskoeffizienten der Linien über Ort, Wiederholung und Genotyp hochsignifikant (P=0,01). Bei den CMS-Einfachkreuzungen war die Genotyp-Ort-Interaktionsvarianz (G x O) höher als die genotypische Varianz, was zu geringen Heritabilitäten führte.

Tab.12: Schätzwerte der Varianzkoeffizienten (VK%)[1] und Heritabilitäten für Mutterkorngewicht je Ähre (MKÄ) der 15 CMS-Linien und 24 CMS-Einfachkreuzungen, Serienverrechnung über zwei und drei Orte 2006 (PET=Petkus, HOH=Hohenheim, OLI=Oberer Lindenhof)

Parameter	Serie über 3 Orte (PET, HOH, OLI)		Serie über 2 Orte (PET, KHO)	
	Linien	Einfachkreuzungen	Linien	Einfachkreuzungen
Varianzursache				
Ort (O)	25,90**	6,32+	37,14**	1,14
Wiederholung	9,72**	5,22**	12,41**	4,25**
Genotyp (G)	12,25**	1,69	17,23**	3,51+
G x O	6,15	4,33*	-[2]	5,21**
Fehler	2,10	9,57	23,70	8,38
Heritabilität	0,69	0,15	0,77	0,39

+, *, ** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von P = 0,1; 0,05; 0,01.
[1] Berechnung der Variationskoeffizienten erfolgte mit transformierten Werten.
[2] Negativer Schätzwert.

Abbildung 6 zeigt die Häufigkeitsverteilung innerhalb der Liniensätze 3 und 4 und der beiden Sätze der Einfachkreuzungen über alle drei Umwelten. Die Mutterkorngewichte je Ähre der Liniensätze sind ähnlich gestaffelt. Die Einfachkreuzungen zeigen in beiden Sätzen deutlich höhere Mutterkorngewichte je Ähre als die Linien.

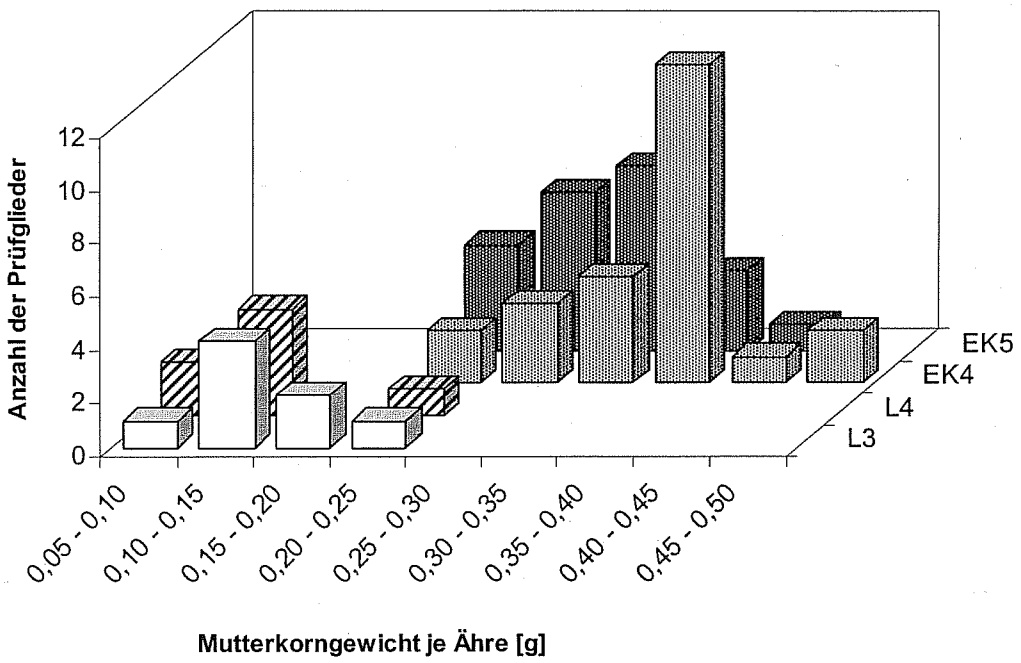

Abb.6: Häufigkeitsverteilung der Mutterkorngewichte je Ähre der CMS-Liniensätze (L3, L4) und CMS-Einfachkreuzungen (EK4, EK5) über drei Umwelten (PET06, KHO06, OLI06)

Die Allgemeine und Spezifische Kombinationsfähigkeit (GCA und SCA) der Einfachkreuzungen (EK4, EK5) mit jeweils drei Bestäubern innerhalb eines Satzes konnten aufgrund der fehlenden genotypischen Varianz in der Serie nicht errechnet werden (s. Tab. 12).

Die Gesamtalkaloidgehalte der acht CMS-Linien und 24 CMS-Einfachkreuzungen des dritten Satzes wiesen an den verschiedenen Standorten trotz gleicher Herkunft des Materials und der Inokulation mit einer Konidiensuspension der gleichen Charge unterschiedliche Mittelwerte und Spannweiten auf (Tab.13). Die Gehalte der Einfachkreuzungen unterschieden sich mit einem mittleren Gehalt von 1230 µg/g Mutterkorn in Petkus und 495 µg/g Mutterkorn in Hohenheim um mehr als die Hälfte. Die genotypischen Varianzen waren nur in Kleinhohenheim (KHO) signifikant (Tab. 14). Das genotypische Varianz der Einfachkreuzungen in Petkus war gering und nicht signifikant. Die genotypische Varianz des Merkmals MKÄ des gesamten Materials war in Petkus hochsignifikant (P=0,01) und in Kleinhohenheim signifikant (P=0,05). Eine signifikante Korrelation der Mutterkorngehalte je Ähre mit dem Gesamtalka-

loidgehalten besteht nicht (Abb. 7). Die CMS-Linien wiesen, wie auch im Jahr zuvor, trotz geringerer Mutterkorngehalte je Ähre höhere Alkaloidgehalte als die CMS-Einfachkreuzungen auf.

Tab.13 : Mittel und Spannweiten der Mutterkorngewichte je Ähre und des Gesamtalkaloidgehaltes von acht CMS-Linien und 24 CMS-Einfachkreuzungen des Satzes 3 über Einzelorte und Serie

		Gesamtalkaloidgehalt		**Mutterkorngewicht je Ähre**	
Ort	Parameter	CMS-Linien	CMS-Einfach-keuzungen	CMS-Linien	CMS-Einfach-kreuzungen
		---------[µg/g Mutterkorn]---------		----------[g]----------	
PET	Mittel	1396,9	1230,0	0,21	0,39
	Spannweite	1200,7 - 1521,3	1001,8 – 1467,6	0,12 – 0,30	0,22 – 0,52
KHO	Mittel	1026,1	495,3	0,07	0,42
	Spannweite	758,0 – 1175,9	261,1 – 718,4	0,01 – 0,17	0,38 – 0,69
SERIE	Mittel	1211,5	859,2	0,14	0,40
	Spannweite	1073,4 - 1274,8	671,2 - 1030,0	0,09 – 0,23	0,17 – 0,57

[1] Summe der 12 analysierte Alkaloide.
PET=Petkus; KHO= Kleinhohenheim

Tab.14 : Genotypische Variationskoeffizienten (VK%)[1] und Wiederholbarkeiten Mutterkorngewichts je Ähre und des Gesamtalkaloidgehaltes[2] von acht Linien (LI) und 24 Einfachkreuzungen (EK) des Satzes 3 über Einzelorte (PET=Petkus, KHO=Kleinhohenheim)

		Gesamtalkaloidgehalt		**Mutterkorngewicht je Ähre**	
Ort	Parameter	CMS-Linien	CMS-Einfach-keuzungen	CMS-Linien	CMS-Einfach-kreuzungen
PET	VK %	-[3]	0,76	9,06**	5,23**
	Wiederholbarkeit	-[3]	0,37	0,91	0,71
KHO	VK %	1,97*	3,24**	60,60*	8,13*
	Wiederholbarkeit	0,77	0,66	0,84	0,53
SERIE	VK %	-[3]	1,44+	17,77	3,72
	Wiederholbarkeit	-[3]	0,43	0,46	0,26

+, *, ** Signifikant bei einer Irrtumswahrscheinlichkeit von P = 0,1; 0,05; 0,01.
[1] Berechnung der Variationskoeffizienten erfolgte mit transformierten Werten.
[2] Summe von 12 Einzelalkaloiden.
[3] Negativer Schätzwert.

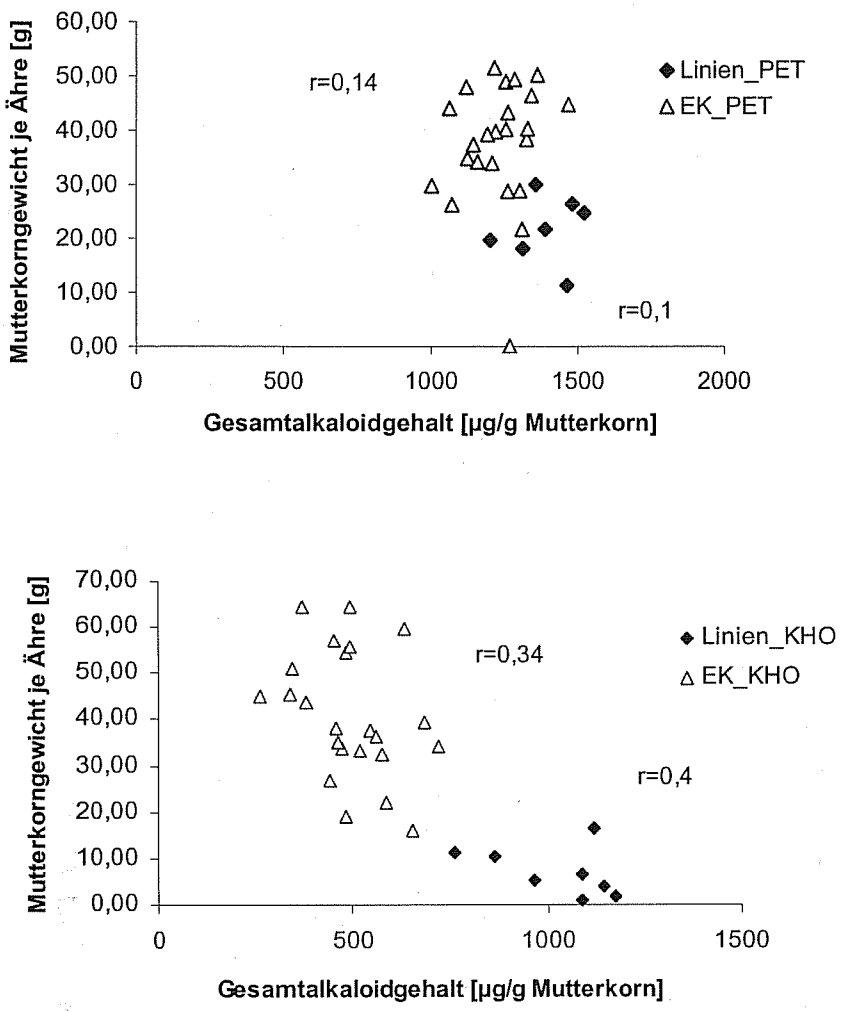

Abb.7: Zusammenhang des Mutterkorngewichts je Ähre und des Gesamtalkaloidgehalt von acht Linien und 24 Einfachkreuzungen des Satzes 3 am Standort Petkus/PET *(oben)* und Kleinhohenheim/ KHO *(unten)*

Das Muster der Alkaloide der CMS-Linien bzw. CMS-Einfachkreuzungen setzte sich bei einem Gesamtgehalt von 1211,5 µg/g bzw. 859,2 µg Gesamtalkaloide je g Mutterkorn über die Standorte Petkus und Kleinhohenheim 2006 wie in Abbildung 8 gezeigt zusammen.

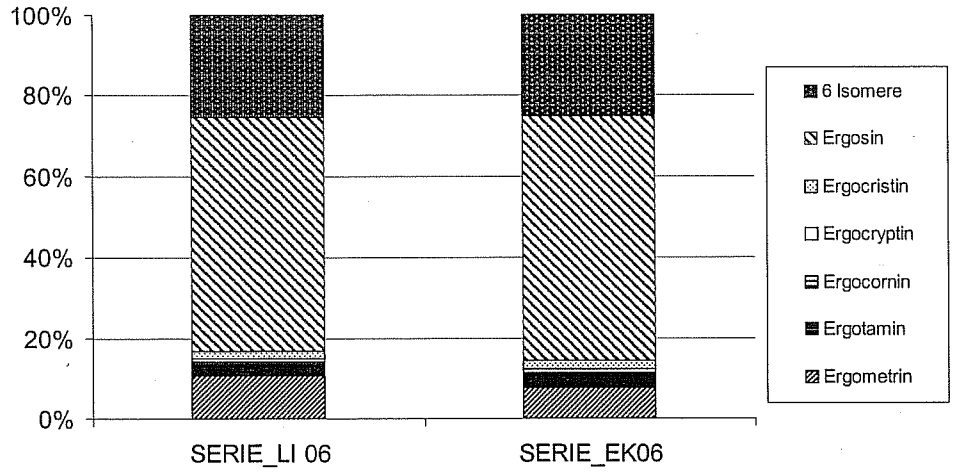

Abb. 8: Prozentuale Verteilung der Einzelalkaloide von acht CMS-Linien (LI) und 24 CMS-Einfachkreuzungen (EK) über zwei Umwelten Petkus (PET06, KHO06)

3.2 Voraussichtlicher Nutzen und Verwertbarkeit der Ergebnisse; Möglichkeiten der Umsetzung oder Anwendung der Ergebnisse für eine Ausdehnung des ökologischen Landbaus; ggf. Angaben zur Erfindung/Schutzrechten; bisherige und geplante Aktivitäten zur Verbreitung der Ergebnisse

Alle geprüften Linien zeigten über drei Jahre auch im pollensterilen Zustand eine signifikante genetische Variation der Mutterkorn-Resistenz. Damit wird erstmals in aktuellem Zuchtmaterial eine physiologische Resistenz gegen diesen Erreger nachgewiesen. Da zu Beginn des Projektes keine Ergebnisse aus Voruntersuchungen zum Resistenzverhalten von pollensterilen Material vorlagen, wurden über die Laufzeit dieses Projektes möglichst viele Genotypen auf ihre Resistenzeigenschaften geprüft.

Morphologische Einflüsse, wie Blütenöffnungsdauer und –weite, Narbenlänge und die Antherenbreite bzw. –länge, können keinen Einfluss gehabt haben, da der Pollen durch den Isolationsanbau weitgehend fehlte. Solches Material bleibt, je nach Witterung, bis zu sieben Tage bei offenen Blütchen befruchtungsfähig und ist deshalb extrem empfindlich gegen Mutterkornbefall. Demnach müssen die nachgewiesenen genetischen Unterschiede auf die Resistenz des Blütenbodens gegen den Mutterkornerreger zurückzuführen sein.

Bei der dreiortigen Verrechnung über die Jahre 2004 und 2005 konnten signifikante Korrelationen zwischen CMS-Linien und ihren korrespondierenden Einfachkreuzungen gefunden werden ($r \approx 0{,}6\text{-}0{,}7$). Die genetischen Korrelationen waren wesentlich höher, was den biologischen Zusammenhang zwischen beiden Materialgruppen nachweist. Der relativ hohe Fehler bei Mutterkornprüfungen und die sehr hohe Genotyp x Umwelt-Wechselwirkung vermindern jedoch die phänotypisch erfassbare Kovariation. Für den Züchter bedeutet dieses Ergebnis, dass eine mehrortige Selektion auf Linienbasis eine Vorinformation über die Resistenz der Einfachkreuzungen gibt. Deshalb können die Resistenzprüfungen an weiter entwickeltem pollensterilem Linienmaterial (z.B. BC_1-Generation) erfolgen, das deutlich besser differenziert als die daraus erstellten Testkreuzungen (s. Tab. 8). Eine bessere Differenzierung der Linien konnte auch im Jahr 2006 festgestellt werden. Das Linienmaterial zeigte größere Variationskoeffizienten und bessere Heritabilitäten (s. Tab.11) als die korrespondierenden Kreuzungen. Die CMS-Linien zeigten bis zu einem Drittel weniger Mutterkorngewicht als die Kreuzungen. Der Mutterkorngehalt der Kreuzungen wiederum war abhängig von der Bestäuberlinie. Bestäuberlinie 2 zeigte über vier Mutterlinien und über drei Umwelten die geringsten Mutterkorngewichte je Ähre (s. Tab.9).

Die Untersuchung der Einzel- und Gesamtalkaloidgehalte erfolgte ausschließlich an den gebildeten Sklerotien, um die Mykotoxinbildung des Pilzes in Abhängigkeit vom Roggengenotyp zu untersuchen. Im Jahr 2006 zeigten die Linien und Einfachkreuzungen Werte zwischen 758,0 und 1521,3 bzw. 261,1 und 1467,6 µg GA je g Mutterkorn. Das Material hatte, wie in

der Studie von Mainka (2006) stark jahres- und ortsabhängige Konzentrationen. Auffällig war, dass die Kreuzungen bei höheren Mutterkorngewichten je Ähre geringere Gesamtalkaloidgehalte aufwiesen als das Linienmaterial (Abb. 7). Dies könnte durch einen Verdünnungseffekt zu erklären sein. Der Gehalt der Alkaloide hat sich bei den Kreuzungen auf ein höheres Mutterkorngewicht aufgeteilt, da diese aufgrund ihrer physiologischen Aktivität und der längeren Ähren mehr Sklerotien bilden. Das Alkaloidmuster der CMS-Linien und Test- bzw. Einfachkreuzungen variierte über die Jahre und den Ort beträchtlich; das der Linien und Kreuzungen war dabei jedoch identisch. Dies kann anhand der Faktoren Klima, Boden, und Nährstoffzufuhr, die nach Young (1981) starken Einfluss auf den Alkaloidgehalt und das -muster haben, erklärt werden. Die Ausprägung dieser Faktoren war standortbezogen und führte deshalb zu identischen Mustern der CMS-Linien und CMS-Kreuzungen. Mainka (2006) bestätigte, dass bei Populations- und Hybridroggen weder das Mutterkorngewicht noch die Genotypen einen signifikanten Einfluss auf den Gesamtalkaloidgehalt haben. Auch in dieser Studie konnte keine Korrelation nachgewiesen werden. Für den Züchter bedeuten die erhobenen Ergebnisse, dass mit geringerem Mutterkornbefall auch gleichzeitig geringere Gesamtalkaloidgehalte zu erwarten sind. Es genügt deshalb im Rahmen des Zuchtprozesses, auf ein geringes Muttergewicht je Ähre innerhalb einer Materialgruppe zu selektieren.

Die Ergebnisse zeigten, dass im selbstfertilen Material eine gezielte Resistenzselektion möglich ist. Demnach können in Zukunft auch Hybridsorten produziert werden, die trotz geringerer Pollenschüttung eine geringe Mutterkornanfälligkeit haben und optimal im ökologischen Landbau eingesetzt werden könnten. Noch empfehlenswerter für die Praxis wäre die Entwicklung gut stäubender Sorten mit zusätzlicher physiologischer Mutterkornresistenz. Damit könnte bei Roggen erstmals eine geringere Anfälligkeit erreicht werden als es die derzeitigen Populationssorten haben. Allerdings ist dies noch ein weiter Weg, da die Resistenz quantitativ vererbt wird (Mirdita 2006) und hohe Genotyp x Umwelt-Wechselwirkungen zeigt, wie auch die vorliegende Studie nachwies. Letztere führte auch nur zu geringen absoluten genotypischen Varianzen in der Serienverrechnung, obwohl die Einzelorte meist gut differenzierten. Dieser, aufgrund der hohen Genotyp x Umwelt-Wechselwirkung, nicht-genetische Einfluss kann nur anhand von Prüfungen in mehreren Umwelten ausgeschaltet werden. Dies erfordert einen hohen Prüfungs- und Erfassungsaufwand für die Resistenz und verringert den Zuchtfortschritt. Zusätzlich hatte der Tester einen deutlichen Einfluss auf die Mutterkornanfälligkeit der Kreuzungen und ihrer Differenzierung.

Die Ergebnisse wurden bereits auf zwei Wissenschaftstagungen zum Ökologischen Landbau (2005, 2007) vorgestellt (s. Pkt. 7) und werden auf geeignete Weise zukünftig in wissenschaftlichen Zeitschriften publiziert.

4 Zusammenfassung

Roggen ist als Fremdbefruchter besonders anfällig für einen Befall mit Mutterkorn, der durch eine Infektion mit dem Schadpilz *Claviceps purpurea* (Fr.) Tul. hervorgerufen wird. Anstelle der Roggenkörner bilden sich schwarze Überdauerungsformen des Pilzes (Sklerotien), die eine Vielzahl von Alkaloiden, die für Tier und Mensch schädlich sind, enthalten. Da eine Reinigung des kontaminierten Getreides sehr kostenaufwendig ist, muss ein Befall schon auf dem Feld verhindert werden. Das Ziel dieser Studie war die Suche nach effektiven Resistenzträgern gegen Mutterkorn aus genetischen Ressourcen des Roggens, die Untersuchung der Vererbung von selbstfertilen Roggenmaterialien (CMS-Material) sowie die Analyse der Wechselwirkungen von Wirtsgenotyp und Mutterkornpilz hinsichtlich der Zusammensetzung und Toxizität der Alkaloide. Dazu wurde nur pollenisoliert angebautes CMS-Material genutzt, um den Faktor Pollenschüttung zuverlässig auszuschalten und die physiologische Mutterkornresistenz zu prüfen. Insgesamt wurden 75 CMS-Linien und 135 CMS-Einfachkreuzungen erstellt und in jeweils mehrere Umwelten unter den Bedingungen des Ökologischen Landbaus geprüft. Hinzu kamen 90 Testkreuzungen mit Genetischen Ressourcen deutscher, polnischer und russischer Herkunft. An allen Orten und Jahren, außer in Kleinhohenheim 2005, wurde ein ausreichender Infektionserfolg erzielt. Die Genetischen Ressourcen zeigten nicht in allen Fällen signifikante Unterschiede in der Mutterkorn-Resistenz. Vor allem im deutschen Material war keine Signifikanz nachweisbar, wohl aber in polnischen und russischen Herkünften. Die Linien hatten geringere Mutterkorngewichte als die Kreuzungen. Die Linien zeigten immer signifikante genotypische Varianzen, die Einfachkreuzungen in den meisten Fällen. Die Genotyp-Umwelt-Interaktionsvarianz und die Fehlervarianz waren durchgehend hoch, was zu geringen Heritabilitäten führte. Die Korrelation zwischen Linien und Einfachkreuzungen war nur in ersten beiden Jahren signifikant (r=0,6 – 0,7; P=0,01). Bei der Alkaloidanalyse zeigten die Linien, trotz geringerer Mutterkorngewichte, im Durchschnitt um ca. 25 % höhere Gesamtalkaloidgehalte als die Kreuzungen. Die genotypischen Varianzen für Einzelalkaloide waren bei allen Experimenten und Materialien nicht oder nur schwach signifikant. Die Alkaloidgehalte erwiesen sich als kaum vom geprüften Roggengenotyp abhängig. Dagegen unterschieden sie sich sehr stark hinsichtlich der Umwelt. Die Ergebnisse zeigten, dass auch im selbstfertilen Material eine gezielte Resistenzselektion möglich ist. Allerdings ist dies noch ein weiter Weg, da die Resistenz quantitativ vererbt wird und hohe Genotyp x Umwelt-Wechselwirkungen zeigt.

5 Gegenüberstellung der ursprünglich geplanten zu den tatsächlichen erreichten Zielen; Hinweise auf weiterführende Fragestellungen

Das vorliegende Projekt wurde unter Einhaltung des im Antrag gegebenen Zeitplans durchgeführt. Die einzige Abweichung von der ursprünglichen Projektplanung bestand beim Fütterungsversuch. Hier hieß es im Antrag: „Sollte eine genetische oder umweltbedingte Variation des Alkaloidmusters festgestellt werden, so sollen die Ernteproben, die sich hinsichtlich des auf ihnen synthetisierten Alkaloidmusters am stärksten unterscheiden, für Fütterungsstudien an Absatzferkeln verwendet werden." Genau diese genetische Variation konnte aber im vorliegenden Material nicht gefunden werden bzw. war nicht signifikant. Alle geprüften Roggengenotypen produzierten praktisch dieselbe Menge an Alkaloiden. Die Tatsache, dass die Mutterkornalkaloide an sich gefährlich für die Tiergesundheit sind, ist nicht zuletzt durch die Arbeiten im Labor des Projektpartners PD Dr. S. Dänicke, hinreichend belegt (Mainka 2006). Stattdessen wurden zusätzlich zum Antrag im Jahr 2006 weitere 256 aufwändige Doppelproben an Alkaloidanalysen kostenfrei durchgeführt. Auch dabei ergab sich keine signifikante Variation des Alkaloidgehaltes.

Das Ziel dieses über drei Jahre laufenden Projektes war die Suche nach effektiven Resistenzträgern gegen Mutterkorn aus genetischen Ressourcen, die Analyse der Vererbung von selbstfertilen Roggenmaterialien sowie die Analyse der Wechselwirkungen von Wirtsgenotyp und Mutterkornpilz hinsichtlich der Zusammensetzung (Alkaloidmuster) und Toxizität der Alkaloide an mehreren Orten. In allen Jahren konnte über alle Orte, außer in Hohenheim 2005, ein Infektionserfolg erreicht werden. Trotz der Inokulation mit einer Konidiensuspension der gleichen Charge fiel dieser Ort aus. Es wird vermutet, dass die zum Zeitpunkt der Inokulation ungünstigen Klimabedingung dazu führten.

Innerhalb dieser Studie war es möglich, signifikante Varianzen des Mutterkorngehaltes verschiedener Materialgruppen zu ermitteln. Dies ist wichtig für weiterführende erfolgreiche Züchtung auf Resistenz. Effektive Resistenzträger genetischer Ressourcen konnten in dieser Studie nicht gefunden werden. Für zukünftige Studien müsste die Suche nach Resistenzgenen ausgeweitet werden. Da dieses Material allerdings zum größten Teil nicht-adaptiert ist, setzt dies kosten- und zeitaufwendige Adaptionsschritte zur Einkreuzung voraus. Eine wesentliche Erleichterung der Selektion wäre die Verwendung von eng mit Mutterkorn-Resistenz gekoppelten DNA-Markern. Dafür müssten geeignete Populationen aufgebaut, unter geeigneten Bedingungen geprüft und eine QTL (quantitative trait loci) durchgeführt werden.

Die Analyse der Vererbung selbstfertiler Materialien zeigte signifikante Effekte der mütterlichen Genotypen, aber auch der Bestäuberlinien. Die Analyse der Alkaloidgehalte und des Alkaloidmuster zeigte aufgrund hoher Genotyp x Umwelt-Wechselwirkungen keine signifikante genotypische Varianz. Auch eine signifikante Korrelation der Merkmale Mutterkorngewicht

je Ähre und Gesamtalkaloidgehalt konnte nicht nachgewiesen werden. Für den Züchter bedeutet dies, dass dieses ohnehin aufwendig zu analysierende Merkmal vernachlässigt werden kann und das eine Selektion von Genotypen mit einem geringeren Mutterkorngewicht als Merkmal ausreicht. Die Selektion muss an mehreren Standorten erfolgen, um dem Einfluss der Genotyp x Umwelt-Wechselwirkungen entgegen zu wirken.

6 Literaturverzeichnis

Bausback, G. (1976). Künstliche Selektion in dem Wirt-Parasit-System Roggen-Mutterkorn. Diss. Universität Hohenheim.

Betz, H. G. und H. Mielke (1996). Möglichkeit zur Bekämpfung des Mutterkorns. Die Mühle + Mischfuttertechnik 133, (44), 726ff.

Betz, H. G., R. Müller, P. Wilde und H. Wortmann (1998). Mutterkorn vermeiden. AID 1361/1998, 3-16.

Engelke, T. (2002). Ansätze für eine integrierte Bekämpfung des Mutterkorns (*Claviceps purpurea* [Fr.] Tul.) im Roggen. Diss. Universität Göttingen, 1-144.

Geiger, H.H. (1972) Wiederherstellung der Pollenfertilität in cytoplasmatisch männlich sterilem Roggen. Theor. Appl. Genet. 42, 32-33.

Geiger, H.H., Yuan, Y., Miedaner, T. and Wilde, P. (1995) Environmental sensitivity of cytoplasmic genic male sterility (CMS) in *Secale cereale* L. In: U. Kück and G. Wricke (Eds.), Genetic Mechanisms for Hybrid Breeding. Advances in Plant Breeding 18, 7-17.

Mainka, S. (2006). Zum Einfluss von Mutterkornalkaloiden im Futter auf Gesundheit und Leistung von Schwein und Huhn. Diss. Uni. Göttingen.

Miedaner T. (1997). Roggen – Vom Unkraut zur Volksnahrung. DLG-Verlag. Frankfurt. 1-151.

Miedaner T., K. Fischer und V. Merditaj (2003). Resistenzzüchtung für den Ökologischen Landbau bei Getreide. LandInfo 4, 47-50.

Mielke, H. (2000). Studien über den Pilz *Claviceps purpurea* [Fr.] Tul. unter Berücksichtigung der Anfälligkeit verschiedener Roggensorten und der Bekämpfungsmöglichkeiten des Erregers. Mitt. Biol. Bundesanstalt. Land und Forstwirtschaft, 375.S.

Mirdita, V. 2006. Genetische Variation für Resistenz gegen Mutterkorn (*Claviceps purpurea* [Fr.] Tul.) bei selbstinkompatiblen und selbstfertilen Roggenpopulationen. Diss. Univ. Hohenheim.

Mothers, K. und A. Silber (1952). Über den natürlichen Befall der Roggenfelder durch Mutterkorn. Pharmazie7, 310-313.

Roth, L., H. Frank und K. Kormann (1990). Giftpilze-Schimmelpilze-Mykotoxine.-Ecomed-Verlagsgesellschaft mbH .

Utz, H. F. (2000). PLABSTAT. Ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Germany.

Young, J. C. (1981). Variability in the content and composition of alkaloids found in canadian ergot. 1. rye. J. Environ. Sci. Health 16, 83 – 111.

Weipert, D. (1996). Über Roggen und Mutterkorn. Die Mühle +Mischfuttertechnik 133 (21); 335-338.

Wolff, J., C. Neudecker, C. Klug und R. Weber (1988). Chemische und toxikologische Untersuchungen über Mutterkorn in Mehl und Brot. Z. Ernährungswiss. 27: 1-22.

7 Übersicht über alle im Berichtszeitraum vom Projektnehmer realisierten Veröffentlichungen zum Projekt (Printmedien, Newsletter usw.)

Thiemt, E.M., V. Merditaj, V. Hahn und T. Miedaner. 2005. Züchtungsforschung für den Ökologischen Landbau an der Landessaatzuchtanstalt Hohenheim – Roggen, Triticale und Sonnenblumen, S. 245-248. In: Heß, J. und G. Rahmann. 2005. Ende der Nische – Beiträge zur 8. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau. Kassel, 1.-4. März 2005.

Miedaner, T., V. Merditaj, E.M. Thiemt und V. Hahn. 2005. Entwicklung spezifischer Zuchtziele für den Ökologischen Landbau bei Getreide und Sonnenblume. LandInfo 4: 25-30.

Miedaner, T., C. Daume, V. Mirdita, B. Schmiedchen, P. Wilde, H.H. Geiger. Verminderung von Alkaloiden in der Nahrungskette durch die züchterische Verbesserung der Mutterkorn-Resistenz von Winterroggen. In: Proc. 9. Wissenschaftstagung Ökologischer Landbau, Stuttgart-Hohenheim, 20.-23.03.2007 (Im Druck).

Das Forschungsvorhaben wurde vom Bundesministerium für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV), Bonn, über die Bundesanstalt für Landwirtschaft und Ernährung (BLE), Geschäftsstelle Bundesprogramm Ökologischer Landbau, Bonn, und der Gemeinschaft zur Förderung der privaten deutschen Pflanzenzüchtung e.V. (GFP) gefördert