

Vorhabenbeschreibung

Kleistogamer Hafer zur nachhaltigen Vermeidung von Flugbrand (KLAR)

(Cleistogamous oats to prevent infection by smuts)

2815NA107 und 2815NA172

Laufzeit: 01.03.2017 bis 29.02.2020

Koordinator: Julius Kühn-Institut, Dr. Matthias Herrmann;

Projektpartner: Forschung und Züchtung Dottenfelderhof (FZD), Dr. Ben Schmehe

A. Gesamtziel

Das Vorhaben hat zum Ziel, das Risiko von Flugbrandinfektionen im ökologischen Pflanzenbau und in der Saatgutproduktion zu reduzieren. Hierzu soll untersucht werden, inwieweit ein geschlossenes Blüten (Kleistogamie) beim Hafer eine Infektion der Samenanlage mit Flugbrand reduziert. Analoge Arbeiten bei der Sommergerste weisen auf einen engen Zusammenhang des Grades an Kleistogamie und der Anfälligkeit gegenüber Flugbrand hin. Die Vorteile dieses Ansatzes lägen im geringeren Prüfaufwand und in der Rassenunabhängigkeit der Befallsminderung, was somit ein sehr nachhaltiger Weg wäre. Ob dieser Weg beim Hafer züchterisch beschritten werden kann, soll mit einer genomweiten Assoziationsanalyse untersucht werden, in welcher ein Sortiment historischer und moderner Hafersorten und Zuchtstämme hinsichtlich ihrer Flugbrandanfälligkeit und Blühmerkmale sowie auf molekularer Markerebene charakterisiert werden soll.

Bezug des Projekts zu den förderpolitischen Zielen und zur Bekanntmachung „Pflanzenzüchtung durch Ressourceneffizienz“ vom 3. Juni 2015

Mit seinem Untersuchungsobjekt Hafer zielt das Vorhaben darauf ab, die Züchtung einer landwirtschaftlichen Fruchtart mit geringer bzw. abnehmender Anbaubedeutung zu unterstützen. Erreicht werden soll dies durch die Verbesserung der Widerstandsfähigkeit gegenüber dem Flugbrand als samenübertragbare Schaderreger. Hierzu sollen, unter Nutzung moderner Methoden der Präzisionszüchtung, genetische Ressourcen des Hafers charakterisiert und genutzt werden. Mit diesen Inhalten adressiert das Vorhaben die in der Förderbekanntmachung unter d), e), f) und j) genannten Gegenstände der Förderung.

Zusammenfassend trägt das Vorhaben dazu bei, den ökologischen Haferanbau sicherer und wirtschaftlicher zu machen sowie im konventionellen Bereich Beizmittel einzusparen.

Wissenschaftliche und technische Arbeitsziele des Projekts

Im Projekt werden drei Arbeitsziele verfolgt:

1. **Phänotypisierung der Blühmerkmale und Flugbrandresistenz:** Zur Kleistogamie sind noch keine umfangreichen Daten vorhanden, weshalb ein Sortiment von 260 Haferlinien, welches die wenigen bis dato als vorwiegend kleistogam eingestufteten Hafersorten enthält, an neun Umwelten (drei Orte, drei Jahre) angebaut wird, wobei inokuliertes und nicht

inokuliertes Saatgut jeder Sorte in benachbarten Reihen ausgedrillt wird. Die nicht inokulierte Variante wird zur Erfassung der Offenblütigkeit, Antherenextrusion als indirektes Merkmal für Offenblütigkeit, sowie der hochheritablen Merkmale Rispenstehen und Wuchshöhe genutzt.

2. **Assoziation molekularer Marker mit Blühmerkmalen und Flugbrandresistenz:** Die Haferlinien werden mittels DNA-Marker genotypisiert, um die genetische Ähnlichkeit der involvierten Sorten und Zuchtstämme zu beschreiben, die erfassten Merkmale über die Marker-Merkmal-Assoziation genetisch zu kartieren und somit Informationen zur Diversität im Prüfsortiment sowie zur Genetik der Merkmale zu generieren.
3. **Prüfung der Wirksamkeit von Kleistogamie für eine Verminderung der Flugbrandinfektion:** Von zwanzig Prüfgliedern mit der gesamten Spannweite in der Kleistogamie werden Rispen geerntet, um die Flugbrandinfektion des Saatgutes zu prüfen. Aus der statistischen Analyse des Zusammenhangs zwischen Infektionsniveau und Kleistogamie wird sich ergeben, in welchem Maße die Kleistogamie eine Reduktion der Infektion bewirken und inwieweit sie als Alternative zum klassischen Resistenz-Ansatz genutzt werden kann.

B. Stand der Wissenschaft und Forschung

Blühvorgang und Kleistogamie bei Hafer

Kenntnisse zum Blühverhalten sind für die Züchtungsmethodik von elementarer Bedeutung, weshalb erste grundlegende Untersuchungen zur Blütenbiologie von Hafer bereits Ende des 19. und Anfang des 20. Jahrhunderts erfolgten (Zade 1918). In diesen Studien ging es um die Aufklärung des Blühvorgangs sowie der Anteile an Selbst- bzw. Fremdbefruchtung. Der Blühvorgang wurde von Zade (1918) detailliert beschrieben, allerdings begrenzt auf damalige Sorten von *Avena sativa*. Demnach beginnt die Blühphase nachmittags gegen 14 Uhr, bei Temperaturen unter 17 °C oder Trockenheit setzt das Blühen später ein und fällt weniger offen aus (Zade 1918). Beim offenen Blühen werden Deck- und Vorspelze durch anschwellende Lodiculae auseinandergedrückt, so dass die Narbe sichtbar wird. Gleichzeitig werden die Antheren durch zügiges Längenwachstum der Filamente herausgeschoben. Da es eine zeitliche Staffelung der Organentwicklung innerhalb der Pflanze und Rispe gibt, dauert die Blühphase einer Pflanze etwa 7 bis 14 Tage (Nicolaisen 1950). Offenblütigkeit führt zum Herausschieben der Antheren aus der Blüte, der sogenannten Antherenextrusion (AE). Die AE kann als indirektes Merkmal für die Offenblütigkeit genutzt werden, da die AE über ein längeres Zeitfenster hinweg und quantitativ einfacher erfasst werden kann. Misono (1936) und Nishiyama (1970) beschreiben die Abhängigkeit des Blühvorgangs bei verschiedenen *Avena* ssp. von der Tageszeit, Luftfeuchte, Temperatur, Sonnenscheindauer, Wind und Regen. Weitere Beobachtungen resultieren aus Experimenten zur Optimierung der Kreuzungsmethodik (Coffman 1937, Brown and Shands 1956, Marshall 1962), Auskreuzungsstudien (Stanton and Coffman 1924, Garber and Quisenberry 1927, Griffie and Hayes 1925, Fatunla and Frey 1980) und Grundlagenforschung zur Entwicklungsbiologie der Blüte (Bonnett 1961).

Biologie von Haferflugbrand (*Ustilago avenae*)

Charakteristisch für *U. avenae* sind die kugeligen, mit kleinen Warzen besetzten Brandsporen, die eine Abgrenzung von anderen *Ustilago*-Arten ermöglichen. Haferflugbrandsporen, die vom

Wind auf die Fruchtanlagen blühender Nachbarpflanzen geweht werden, keimen größtenteils dort aus und überwintern als Ruhemyzel zwischen Korn und Spelze (Mills 1966, Thiede 1963, Zade 1924, Kolk 1930). Dieses Ruhemyzel sowie nicht gekeimte Sporen bilden den Ausgangspunkt für die Keimlingsinfektion nach der Aussaat. Bei der Inokulation im Rahmen der Resistenzzüchtung werden Sporen in die Zwischenräume zwischen Kern und Spelze per Vakuum gebracht (Zade 1928) und führen so zu hohen Infektionsraten bei anfälligem Hafer. Wenn man eine Infektion auf natürliche Weise durch gemeinsames Abblühen brandiger Rispen mit den zu infizierenden erreichen möchte, ist der Infektionserfolg sehr unsicher und von der Witterung während der Blüte abhängig (Moldenhauer 1927). Bei der natürlichen Infektion müssen Sporen entweder direkt in die Samenanlage gelangen oder auf den Innenseiten der Deck- oder Vorspelze haftenbleiben. Beides setzt ein offenes Blühen voraus, da die genannten Organe bei geschlossener Blüte von Hüllspelzen eingeschlossen werden. In Abb. 1 ist eine typische Rispe mit offenen und noch geschlossenen Blüten dargestellt. Bei letzteren erkennt man, wie die Hüllspelzen die Deck- und Vorspelze einhüllen. Hüllspelzen gehen beim Dreschen verloren. Die Keimlingsinfektion durch außen an der Spelze haftende Sporen ist praktisch bedeutungslos für die Infektion (Zade 1924) – nur bei entspelzten nackten Karyopsen kommt es zur Keimlingsinfektion, wenn Sporen außen anhaften.



Abb. 1 Rispe mit offenen und geschlossenen Blüten

Das Temperaturoptimum für die Keimung des Hafers liegt unter jenem der Flugbrandsporen, weshalb bei geringen Bodenfeuchten und Temperaturen um 20 °C eine Infektion durch Flugbrand wesentlich häufiger ist als bei kühlen Temperaturen. Deshalb sind Spätsaaten bei Hafer stärker mit Flugbrand belastet als frühe Aussaaten. Die im Vorhaben durchzuführenden Resistenztests berücksichtigen diese Ansprüche des Pathogens und werden bei Bodenfeuchten unter 25 % und hoher Temperatur in den ersten 5 Tagen nach der Aussaat unter kontrollierten Bedingungen durchgeführt (Nicolaisen 1934).

Keimt infiziertes Saatgut aus, werden durch Wachstum der Hyphen die Blatt- und Halmbasis sowie die meristematischen Gewebe befallen. Mills (1966) berichtet über einen sehr zeitigen Befall der Rispenanlage. So wurde bereits in unausgebildeten Rispenanlagen von 1,5 cm Länge eine Sporenbildung durch den Pilz beobachtet. Die so entstehenden Brandrispen werden leicht verzögert herausgeschoben, um zeitgleich mit der Blüte der gesunden Rispen die Ausbreitung der Sporen auf die Nachbarpflanzen zu ermöglichen.

Von Nicolaisen (1934) wird der Generationswechsel von *U. avenae* zusammengefasst beschrieben. Demnach keimt die reife einkernige Chlamydospore zu einem vierkammerigen Promyzel aus. Jeder dieser Teile kann sich durch Sporidienabschnürung oder durch Myzelwachstum vermehren. Myzel oder Sporidien verschiedener Abschnitte können miteinander kopulieren, wenn sie geschlechtlich verschieden sind. Einzig aus den kopulierten Zellen entsteht ein Myzel, welches in der Lage ist, in die Pflanze einzudringen und wiederum Chlamydosporen entstehen zu lassen. Durch diesen mehrfach nachgewiesenen Generationswechsel sind die Chlamydosporen oft heterozygot und bei der Isolation von Einzelsporen können unterschiedlich virulente Linien herausspalten (Sampson und Western 1938). Deshalb ist die Isolation und Vermehrung von haploiden Sporidien der sicherste Weg, um reine Flugbrandlinien zu erhalten. Ein weiterer Weg zur Erzeugung homozygoter Rassen wird in der wiederholten Vermehrung auf rassenspezifisch resistenten Hafersorten gesehen (Sampson und Western 1938).

Von *U. avenae* werden zahlreiche Pathotypen gebildet, deren Differenzierung mit Hilfe eines internationalen Testsortimentes möglich ist. Letzteres besteht aus 23 kanadischen Haferlinien und 2 alten deutschen Sorten, deren rassenspezifische Resistenz bereits von Nicolaisen (1934) beschrieben ist. Eigene Versuche hiermit im Rahmen der beiden abgeschlossenen Projekte (02OE030 03OE647) zeigten Unterschiede im Virulenzspektrum bei den deutschen Flugbrandherkünften und der finnischen Rasse sowie eine geringere Virulenz im Vergleich zu einer Kanadischen Flugbrandrasse auf.

Flugbrandresistenz und Resistenzgenetik

Zur Resistenz gegen Haferflugbrand (*Ustilago avenae*) gibt es eine Reihe von Arbeiten aus Nordamerika (Reed et al. 1925, Reed et al. 1947; Nielsen 1977, Wilcoxson und Stuthman 1993), Deutschland (Nicolaisen 1934, Schattenberg 1934), Frankreich (Moule 1957), Polen (Miczynski 1955) und der ehemaligen Tschechoslowakei (Bartoš 1964), in denen zahlreiche Resistenzquellen beschrieben sind. Nicolaisen (1934) fand im deutschen Hafersortiment jedoch keine Resistenz, die wirksam gegen alle in Deutschland gesammelten Rassen war. Lediglich einige ausländische Hafersorten erwiesen sich als immun im Sinne vollständiger Befallsfreiheit. Als Resistenzmechanismen wurden erstens eine Eindringungsresistenz in die Epidermis, zweitens eine Hypersensitivitätsreaktion nach dem Eindringen und drittens die Hemmung des Myzelwachstums im Gewebe beschrieben (Western 1936). Ob es jedoch eine tatsächliche Hemmung des Pathogenwachstums gibt oder die genetische Konstitution des Pilzes ein langsames Wachstum bedingt, ist bislang nicht untersucht. Zur Vererbung von Flugbrandresistenzen gibt es zahlreiche Publikationen (Nicolaisen 1931 und 1934, Reed und Stanton 1938, Kibite et al. 2000), die übereinstimmend eine Dominanz für Resistenz konstatieren und dabei ein, zwei oder drei unabhängige Gene je nach Resistenzquelle und Virulenz des Pathogens postulieren. In eigenen Arbeiten der Antragsteller wurden nur wenige resistente Sorten im aktuellen Hafersortiment gefunden (Herrmann 2004, Schmehe 2011). Zur molekulargenetischen

Kartierung gibt es bislang erst eine Publikation in Form einer Zusammenfassung eines Vortrages auf der 7. Internationalen Haferkonferenz in Helsinki 2004 (Kibite et al. 2004).

Kleistogamie als Pseudoresistenz

Offene Blüten werden von zahlreichen Pathogenen zur Infektion genutzt. Neben *Ustilago* ssp. sind es *Pyrenophora* ssp., *Claviceps purpurea* und *Fusarium* ssp., deren Generationszyklus mit der Infektion der Samenanlage durch offenes Blühen gefördert oder ermöglicht wird. Ergebnisse am Wirt/Pathogen-System Gerste/Flugbrand (Pedersen 1960) zeigen, dass die Nutzung der Kleistogamie züchterisch effektiver als die Resistenzzüchtung über Infektionstests ist. Pedersen (1960) empfiehlt bei zweizeiliger Gerste die Erfassung der Antherenextrusion als indirektes und gut erfassbares Merkmal, welches mit der Offenblütigkeit korreliert. Bei Weizen wird der Kleistogamie-Ansatz als eine Möglichkeit zur Reduktion der Fusarien-Mykotoxinakkumulation diskutiert (Buerstmayr und Buerstmayr 2015, Kubo et al. 2013) und die Entwicklung kleistogamer Weizen gefördert (Saskatoon, Kanada, Projektbeginn 2015; <http://www.saskwheatcommission.com/frp/development-of-fully-cleistogamous-wheat-and-associated-markers/>). Erste eigene Untersuchungen zum Blühverhalten bei Hafer zeigen, dass es große quantitative Unterschiede in der Kleistogamie gibt. Einige wenige Haferlinien sind in den bisherigen Screenings nahezu kleistogam, was aber noch unter weiteren Umwelten geprüft werden muss.

Assoziationsanalysen bei Hafer

Marker-Merkmal-Assoziationen ermöglichen eine sehr präzise QTL-Kartierung, ohne dass spezielle Kartierungspopulationen entwickelt werden müssten. Sie setzen allerdings eine hohe Markerabdeckung der untersuchten Population voraus, was bei Hafer erst mit der Nutzung der AFLPs und DArTs zunehmend gegeben war und mittlerweile durch die neuesten Genotypisierungsplattformen gewährleistet ist (Oliver et al. 2011, Oliver et al. 2013; Chaffin et al. 2016). In jüngster Zeit wurden mehrere Assoziationsstudien publiziert (Foresman et al. 2016, Klos et al., 2016), in denen zunächst einfach erfassbare Merkmale wie das Rispschieben untersucht oder ältere Evaluierungsdaten (Winkler et al. 2016) genutzt wurden; zu Blühmerkmalen gibt es noch keine Publikationen.

Schutzrechte

Im Projekt werden Schutzrechte anderer Personen oder Einrichtungen nicht berührt und eigene Anmeldungen sind nicht zu erwarten oder geplant.

Literatur

- Bartoš, P. 1964: Varietal resistance of oats to loose smut. Rostlinná Výroba, p. 409–422
- Bonnett, O. T. 1961: The oat plant: its histology and development. 111. Agr. Exp. Sta. Bui. 672. 112p.
- Brown, Ch. M. and H. L. Shands 1956: Factors Influencing Seed Set of Oat Crosses. Agron. J. 48: 173–177.
- Buerstmayr, M., and H. Buerstmayr 2015: Comparative mapping of quantitative trait loci for *Fusarium* head blight resistance and anther retention in the winter wheat population Capo × Arina. Theor. Appl. Genet. 128: 1519–1530.

- Chaffin, A.S., Y.F. Huang, S. Smith, W.A. Bekele, E. Babiker, B.N. Gnanesh, B.J. Foresman, S.G. Blanchard, J.J. Jay, R.W. Reid, C.P. Wight, S. Chao, R. Oliver, E. Islamovic, F.L. Kolb, C. McCartney, J.W. Mitchell Fetch, A.D. Beattie, Å. Bjørnstad, J.M. Bonman, T. Langdon, C.J. Howarth, C.R. Brouwer, E.N. Jellen, K.E. Klos, J.A. Poland, T.F. Hseih, R. Brown, E. Jackson, J.A. Schlueter, and N.A. Tinker, 2016: A consensus map in cultivated hexaploid oat reveals conserved grass synteny with substantial sub-genome rearrangement. *Plant Genome* 9. doi:10.3835/plantgenome2015.10.0102
- Callaghan, A. R. 1931: A study of anthesis in cultivated oats. *Agr. Gas. N.S. Wales*, 311–321
- Coffman, F.A. 1937: Factors influencing seed set in oat crossing. *J. Hered.* 28: 296–303.
- Fatunla T. , K. J. Frey 1980: Analysis of Genetic Changes in Radiated and Non-radiated (*Avena sativa* L.) Populations. *Theor. Appl. Genet.* 56,199–202.
- Foresman B.J., Oliver R.E., Jackson E.W., Chao S., Arruda M.P., Kolb F.L., 2016: Genome-Wide Association Mapping of Barley Yellow Dwarf Virus Tolerance in Spring Oat (*Avena sativa* L.). *PLoS ONE* 11(5): e0155376. doi:10.1371/journal.pone.0155376.
- Garber R.J. and Quisenberry K.S., 1927: Natural crossing in oats at Morgantown, West Virginia. *Jour. Amer. Soc. Agron.*, 19: 191–196.
- Griffiee, F., and Hayes, H. K., 1925: Natural crossing in oats. *J. Amer. Soc. Agron.*, 17: 545-549.
- Hammer, K., 1975: Die Variabilität einiger Komponenten der Allogamieneigung bei der Kulturgerste (*Hordeum vulgare* L.s. l.). *Kulturpflanze* 23: 167–180.
- Kibite, S., J.G. Menzies and P.L. Thomas. 2000: Inheritance of resistance to three pathotypes of loose smut of oats. In: R. Cross et al. (eds.) *Proc. 6th Int. Oat Conf.*, pp. 298–302.
- Kibite, S.; Rossnagel, B.; Eckstein, P.; Hay, D.; Menzies, J.; Dill-Macky, R.; Scoles, G., 2004: A molecular marker for, and the organization of, a cluster of loose smut resistance genes in oat. *Proceedings 7th International Oat Conference / P. Peltonen-Sainio and M. Topi-Hulmi (eds.) Agrifood Research Reports* 51, p. 183.
- Klos, K.E., Y.-F. Huang, W.A. Bekele, D.E. Obert, E. Babiker, A.D. Beattie, et al. 2016: Population genomics related to adaptation in elite oat germplasm. *Plant Gen.* doi:10.3835/plantgenome2015.11.0113.
- Kolk L.A., 1930: Relation of host and pathogen in the oat smut, *Ustilago avenae*. *Bulletin of the Torrey Club*. Vol. 57, 443–507.
- Kubo K., Fujita M., Kawada N., Nakajima T., Nakamura K., Maejima H., Ushiyama T., Hatta K., Matsunaka H., 2013: Minor differences in anther extrusion effect resistance to *Fusarium* head blight in wheat. *J. Phytopathol.* 161:308–314.
- Marshall H. G., 1962. Effect of Wetting and Shading Bags on Seed Set of Oat Crosses. *Crop Sci.* 2: 4: 365–366.
- Miczynski, K. 1955: Studies on the susceptibility of oat varieties to smut – Part II (in Polish). *Acta Agrobotanica* 3: 179–217.
- Mills, J.T. 1966: The development of loose smut (*Ustilago avenae*) in the oat plant with observations on spore formation. *Trans. Br. Mycol. Soc.* 49: 651–663.
- Misono, G. 1936: Ecological and physiological studies on the blooming of oat flowers. *J. Faculty Agr., Hokkaido Imp. Univ.* 37: 211–337. Sapporo, Japan.

- Moldenhauer, I. 1927: Untersuchungen über die Empfänglichkeit der Wild- und Kulturhaferformen für *Ustilago avenae* mit besonderer Berücksichtigung des Infektionsvorganges, Kühn-Archiv 15: 349–405.
- Moule, C. 1957: La resistance au charbon nu chez l'avoine cultivee. Ann. Amelior. Plantes 7: 159–198.
- Nicolaisen, W. 1931: Beitrag zur Immunitätszüchtung des Hafers gegen *Ustilago avenae* (Pers.) Jens. Z. Züchtg.: A. Pflanzenzüchtg. Bd. 16, Heft 2: 256–278.
- Nicolaisen, W. 1934: Die Grundlagen der Immunitätszüchtung gegen *Ustilago avenae* (Pers.) Jens.. Z. Züchtg.: A. Pflanzenzüchtg. Bd. 19 Heft 1: 1–56.
- Nicolaisen, W. 1950: Hafer, *Avena sativa* L. Handbuch der Pflanzenzüchtung, zweiter Band, Hrsg. Th. Roemer und W. Rudorf. S. 224–288.
- Nielsen, J. 1977: A collection of cultivars of oats immune or highly resistant to smut. Can. J. Plant Sci. 57: 199–212.
- Nishiyama I. 1970: Four types of flowering time in *Avena*. JAPAN.J . GENETICS. Vol. 45, No. 5: 399–409.
- Oliver R.E., Lazo G.R., Lutz J.D., Rubenfield M.J., Tinker N.A., Anderson J.M., Brown Guedira GL, Chao S., Beattie A.D., Carson M.L., Rines H.W., Obert D.E., Bonman J.M., Jackson E.W. 2011: Model SNP development for complex genomes based on hexaploid oat using high-throughput 454 sequencing technology. BMC Genomics.; 12:77.
- Oliver R.E., Tinker N.A., Lazo G.R., Chao S., Jellen E.N., Carson M.L., Rines H.W., Obert D.E., Lutz J.D., Shackelford I., Korol A.B., Wight C.P., Gardner K.M., Hattori J., Beattie A.D., Bjørnstad Å., Bonman J.M., Jannink J.L., Sorrells M.E., Brown-Guedira G.L., Mitchell Fetch J.W., Harrison S.A., Howarth C.J., Ibrahim A., Kolb F.L., McMullen M.S., Murphy J.P., Ohm H.W., Rossnagel B.G., Yan W., Miclaus K.J., Hiller J., Maughan P.J., Redman Hulse R.R., Anderson J.M., Islamovic E., Jackson E.W. 2013: SNP Discovery and Chromosome Anchoring Provide the First Physically-Anchored Hexaploid Oat Map and Reveal Synteny with Model Species. PLoS ONE 8(3): e58068. doi:10.1371/journal.pone.0058068.
- Pedersen, P. N. 1960. Methods of testing the pseudo-resistance of barley to infection by loose smut, *Ustilago nuda* (Jens.) Rostr. Acta Agric. Scand. 10: 312–332.
- Reed, G.M.; M.A. Griffiths and F.N. Briggs 1925: Varietal susceptibility of oats to loose and covered smuts. USDA, Washington D.C., Department Bull. No. 1275: 1–37.
- Reed, G.M. and Stanton T.R. 1938: Inheritance of resistance to loose and covered smuts in Markton oat hybrids. J. Agric. Res. 56: 159–176.
- Reed, G.M., T.R. Stanton and G.J. Wilds 1947: Reaction of oat varieties and selections to physiologic races A-30 and A-31 of loose smut. J. Amer. Soc. Agron. 39: 1077–1087.
- Sampson, K. and Western J.H. 1938: Biology of oat smuts. V. A ten years' survey of six spore collections. Propagation, screening and monospore isolation experiments. Ann. Appl. Biol. 25: 490–505.

- Schattenberg, H. 1934: Untersuchungen über das Verhalten von Sorten, Kreuzungsnachkommenschaften und Kreuzungspopulationen gegenüber verschiedenen Herkünften von Haferflugbranden. Kühn-Archiv 37: 411–449.
- Stanton T. R., and Coffman F.A. 1924: Natural crossing in oats at Akron, Colorado, J. Amer. Soc. Agron. 16: 646–659.
- Thiede, H. 1963: Untersuchungen zur Biologie und Bekämpfung von *Ustilago avenae* (Persoon) Jensen sowie der Infektionsmethodik. Phytopathol. Z. 48: 29–72.
- Western, J.H. 1936: Biology of oat smuts. IV. The invasion of some susceptible and resistant oat varieties, including Markton, by selected biological species of smut. (*Ustilago avenae* (Pers.)) Jens and *Ustilago kollerii* (Wille). Ann. Appl. Biol. 23: 245–263.
- Wilcoxson, R.D. und Stuthman D.D. 1993: Evaluation of oats for resistance to loose smut. Plant Dis. 77: 818–821.
- Winkler L.R., Bonman M. J., Chao S., Yimer A.B., Bockelman H. and Klos E.K. 2016: Population Structure and Genotype-Phenotype Associations in a Collection of Oat Landraces and Historic Cultivars. Front. Plant Sci. 7:1077.doi: 10.3389/fpls.2016.01077.
- Zade, A. 1918: Der Hafer. Monographie: 355 S. Gustav Fischer, Jena.
- Zade, A. 1924: Neuere Untersuchungen über die Lebensweise und Bekämpfung des Haferflugbrandes (*Ustilago avenae* (Pers.) Jens.), Angew. Bot. 6: 113–125.
- Zade, A. 1928: Masseninfektionen mit Haferflugbrand nach einem neuen Verfahren. Pflanzenbau 5, S. 43.

C. Bisherige Arbeiten des Anbieters

In ersten, unveröffentlichten Untersuchungen zur genetischen Variation der Blühmerkmale des Hafers zeigte sich eine große genetische Variation für Kleistogamie und Antherenextrusion bei Hafer, so dass geeignetes Linienmaterial für die geplante Studie zur Beschreibung der Chancen des Pseudoresistenzansatzes vorhanden ist. Zur Erfassung der Blühmerkmale liegen inzwischen wichtige Erfahrungen vor. Da das enge Zeitfenster des Blühvorgangs die Kleistogamiebonitur eingrenzt, soll zusätzlich die Antherenextrusion als indirektes Merkmal nach der Blüte bonitiert und die Antherenretention über die Wintermonate an eingefrorenen Rispen ausgezählt werden.

Antragsteller **Dr. Matthias Herrmann (JKI)** hat mehrere Projekte bei Hafer und Triticale zur Resistenzgenetik gegen Mehltau, Flugbrand und Fusarium geleitet. Dazu gehören erfolgreich abgeschlossene BÖL-Projekte 02OE030 und 03OE647 zum Thema Flugbrandresistenz bei Hafer. Ausgewählte Publikationen:

- Herrmann, M. 2004: Untersuchung europäischer Sorten und genetischer Ressourcen des Hafers auf Resistenz gegen den Haferflugbrand. In: RAHMANN, G.; KÜHNE, S. [Hrsg.]: Ressortforschung für den ökologischen Landbau 2004, Landbauforschung Völknerode, Sonderheft 273, 21–26.
- Herrmann, M. 2007: A diallel analysis of various traits in winter triticale. Plant Breeding 126, 1923.
- Yu, J. & M. Herrmann. 2006: Inheritance and mapping of a powdery mildew resistance gene introgressed from *Avena macrostachya* in cultivated oat, Theor. Appl. Genet. 113:429–437.

- Herrmann M., Ruge-Wehling B., Hackauf B., Klocke B., Flath K. 2009: Genetical analysis of resistance to powdery mildew in triticale. Proceedings of the 3rd International Symposium on Plant Protection and Plant Health in Europe, Berlin, 14–16 May 2009, p. 393–400.
- Herrmann, M., J. Yu, St. Beuch and W. E. Weber 2014: QTLs for quality and agronomic traits in two advanced backcross populations in oat (*Avena sativa* L.); Plant Breeding, 133, 588–601.
- Herrmann, M. 2007: Virulence of *Ustilago avenae* pathotypes in oat (*Avena sativa*). FAL Agricultural Research, Ressortforschung für den ökologischen Landbau, Special Issue 314, 63–67.

Projektpartner **Dr. Ben Schmehe (FZD)** leitet das Haferzuchtprogramm der Forschung und Züchtung Dottenfelderhof und ist hierbei insbesondere auch mit der Flugbrandresistenz befasst.

D. Erfolgsaussichten

– Wirtschaftliche Erfolgsaussichten

Wenn sich bestätigt, dass die Kleistogamie wirksam Infektionen mit Flugbrand verhindert, wird dieses in der ökologischen Sortenzüchtung künftig berücksichtigt werden, weil der Aufwand hierfür geringer ist als für die klassische Resistenzzüchtung. Dieses würde die Sortenentwicklung unterstützen. Mittelfristig würden weitere Haferzüchter ebenfalls die Kleistogamie beachten, um neben der Flugbrandvermeidung auch Sorten mit besserer Fusariumresistenz entwickeln zu können. Langfristig gesehen könnte im Erfolgsfall der Flugbrand weiter aus der Landwirtschaft verdrängt werden, wenn sich kleistogame Sorten durchsetzen sollten. Die aus der Assoziationsanalyse erwarteten Kenntnisse zu genetischen Ähnlichkeit der untersuchten Haferlinien sowie zur Genetik der untersuchten Merkmale werden insbesondere bei der Kreuzungsplanung des Partners FZD von Nutzen sein und auf diese Weise die Sortenentwicklung unterstützen.

– Wissenschaftliche und/oder technische Erfolgsaussichten

Aufgrund der vorhandenen Erfahrungen der Projektpartner mit dem Forschungsobjekten Hafer und Flugbrand sowie der bereits bestätigten Existenz quantitativer Unterschiede in den Zielmerkmalen können die Erfolgsaussichten für die Differenzierung des Sortiments und für die Assoziations-Kartierung als sehr gut eingeschätzt werden. Inwieweit ein hohes Niveau der Kleistogamie die Infektion reduzieren, kann erst nach dem Projekt beantwortet werden.

– Wissenschaftliche und wirtschaftliche Anschlussfähigkeit

Die geplanten Untersuchungen zur Kleistogamie sind für die Haferzüchtung Neuland und bereits dadurch wissenschaftlich interessant, dass weltweit erstmalig ein Hafersortiment auf Offenblütigkeit bzw. Kleistogamie geprüft wird. Ebenfalls wissenschaftlich neu sind exakte mehrortige Versuche zur Kleistogamie und deren Wirksamkeit zur Verhinderung der Infektion mit Flugbrand. Neben dieser generellen Fragestellung gibt es weitere offene Fragen, wie die nach den biochemischen und biophysikalischen Ursachen für die Kleistogamie in den entsprechenden Linien. Zugleich dürften die Ergebnisse für die Resistenzzüchtung gegen Fusarium, zu der in

Europa mehrere Forschungsprojekte laufen, interessant sein, da die Antherenextrusion und die Offenblütigkeit die Infektion mit Fusarium beeinflussen.

Im Erfolgsfall wäre das notwendige Niveau der Kleistogamie für die Vermeidung von Flugbrand ein nächstes Thema. Eine weitere Anschlussaktivität wäre Züchtungsforschung zur Frage, wie die Anzahl oder der Anteil kleistogamer Sorten am effektivsten erhöht werden könnte. Dazu würde der Antragsteller ein neues Projekt mit Haferzüchtern anstreben. Des Weiteren wäre die Frage interessant, ob es im Sortiment verschiedene biophysikalische Mechanismen für Kleistogamie mit entsprechend verschiedener Genetik gibt, wie sie bei Gerste beschrieben sind. Für diese Grundlagenforschung wären dann Verbundprojekte mit weiteren universitären und außeruniversitären Forschungspartnern zu organisieren.

E. Ausführliche Beschreibung des Arbeitsplans

Das Projekt ist in drei Arbeitspakete gegliedert:

AP1: Phänotypisierung der Blühmerkmale und Flugbrandanfälligkeit (JKI und FZD) Für das Projekt wird ein Sortiment aus Sorten und Zuchtstämmen des Züchtungspartners, Sorten des Differenzialsortimentes für Flugbrandresistenz sowie neuen Sorten europäischer Züchter zusammengestellt. Diese 260 Haferlinien werden in den Jahren 2017 bis 2019 auf Flugbrandanfälligkeit, Antherenextrusion und Offenblütigkeit phänotypisiert (Doppelreihe, 2 Wdhl., randomisierte Gitteranlage). Die Haferlinien werden mit Hilfe der Vakuummethode mit Flugbrand inokuliert (JKI und FZD), das Saatgut zurückgetrocknet und an den drei Versuchsorten per Einzelreihendrillmaschine ausgesät, jeweils zusammen mit einer nicht inokulierten Saatgutprobe. Der Anteil infizierter Pflanzen wird an allen drei Orten Groß Lüsewitz, Quedlinburg und Dottenfelder Hof erfasst und dient zugleich als Nachweis für den Grad der Anfälligkeit der Sorte. An der nicht inokulierten Reihe werden die Offenblütigkeit als Gradmesser für Kleistogamie und die Antherenextrusion wiederholt während der Blüte im Abstand von 3 Tagen bonitiert (JKI und FZD). Die Antherenretention wird an tiefgefrorenen Rispenproben in den Wintermonaten anhand der in den Blüten verbliebenen Antheren ausgezählt (JKI).

AP 2: Genotypisierung und Assoziationsanalyse (JKI)

Das Haferpanel wird mittels DArT-Seq- oder GBS-Marker (Auftragsvergabe) genotypisiert, für die es bereits Referenzkarten gibt. Die Marker-Merkmal-Assoziationen werden über lineare Modelle mit der Software TASSEL berechnet. Zur Minimierung der Falsch-Positiv-Rate werden die Kindship-Matrix im Model berücksichtigt, die Populationsstruktur mit Hilfe der Software STRUCTURE berechnet und eine fünffache Kreuzvalidierung vorgenommen.

AP 3: Flugbrandinfektion in Abhängigkeit vom Grad der Kleistogamie (JKI und FZD)

Aus dem in AP1 geprüften Sortiment werden von 20 für Flugbrand anfälligen Hafersorten, die die Spannweite für Kleistogamie abdecken, Rispenproben von allen drei Versuchsorten geerntet und das Saatgut davon im Gewächshaus unter Flugbrand förderlichen kontrollierten Bedingungen (Oktober bis März; JKI, Groß Lüsewitz) auf Flugbrandinfektion untersucht. Letztere Daten werden mit den Daten zur Kleistogamie regressionsanalytisch verglichen und für die

vermutete Abhängigkeit wird ein statistisches Modell entwickelt. Da das Niveau der Kleistogamie auch durch Witterungsfaktoren beeinflusst wird, sind drei Orte und zwei Jahre für dieses Arbeitspaket eingepplant.

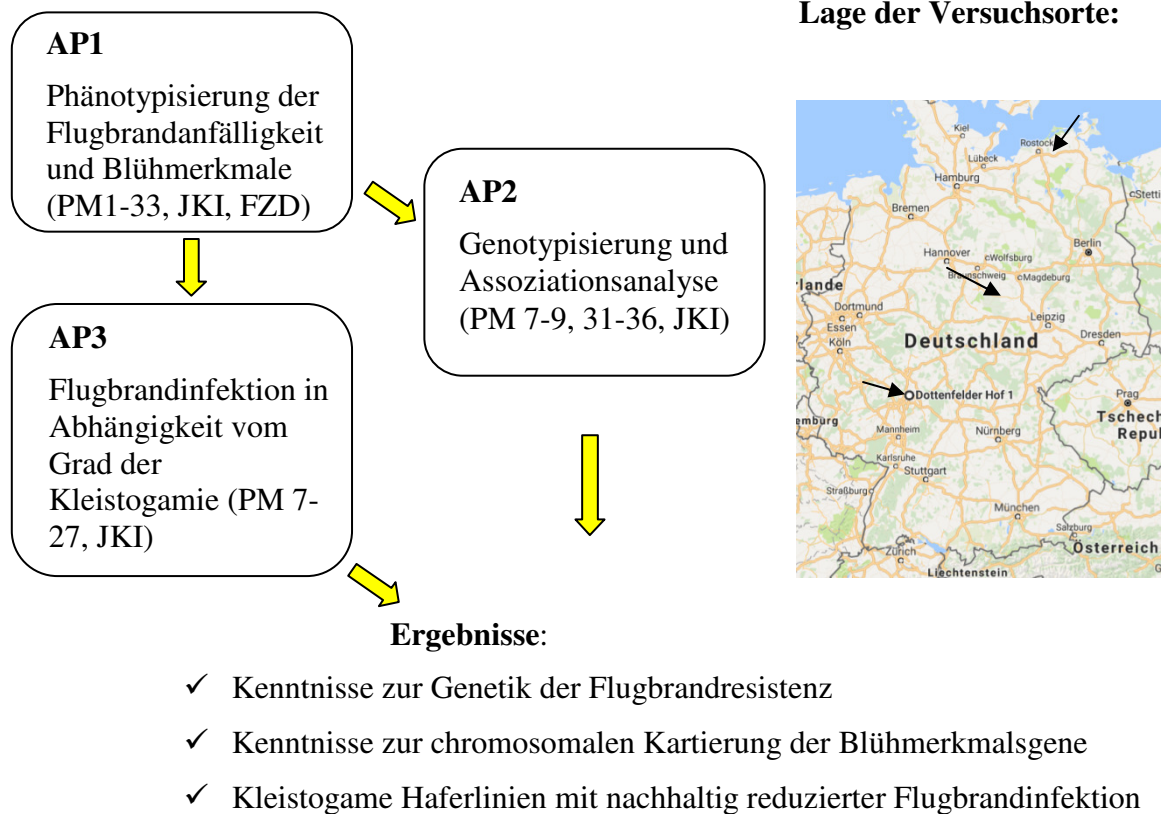


Abb. 2 Strukturplan des Vorhabens mit Projektmonaten (PM) und den jeweils beteiligten Einrichtungen

Balkenplan und Meilensteine

| Jahr | 2017 | | | | 2018 | | | | 2019 | | | 2020 |
|--------------------------|------|-----|-----|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Projektmonate | 1-3 | 4-6 | 7-9 | 10-12 | 13-15 | 16-18 | 19-21 | 22-24 | 25-27 | 28-30 | 31-33 | 34-36 |
| AP-1 Phänotypisierung | M1 | | M2 | M3 | | | M4 | M5 | | | M6 | |
| AP-2 Assoziationsanalyse | | | M7 | | | | | | | | M8 | M9 |
| AP-3 Pseudoresistenz | | | | | M10 | | | | M11 | | | |

M1, M3, M5: Aussaat der 260 Haferlinien an allen drei Orten abgeschlossen.

- M2, M4, M6: Ergebnisse zur Resistenz gegen Flugbrand und zur Kleistogamie liegen aus dem jeweiligen Versuchsjahr vor.
- M7: DNA-Isolation von 260 Genotypen und Auftragsvergabe zur Genotypisierung.
- M8: Daten aus der Phänotypisierung und der Genotypisierung sind für die Assoziationsanalyse verfügbar.
- M9: Assoziationen zwischen Marker und Merkmalen werden analysiert.
- M10: Ergebnisse vom ersten Prüfljahr zum Effekt der Kleistogamie auf die Infektion liegen vor. Je nach Ergebnis muss über das weitere Vorgehen neu entschieden werden.
- M11: Infektionsergebnisse vom zweiten Jahr liegen vor. Entscheidung darüber, ob klassische Resistenz oder Kleistogamie zur Reduktion der Flugbrandinfektion künftig weiter bearbeitet werden.