



# In vitro-Selektion auf Resistenz gegen Spelzenbräune

Beat KELLER, Hans WINZELER, Michael WINZELER und Padruot FRIED,  
Eidgenössische Forschungsanstalt für landwirtschaftlichen Pflanzenbau, Reckenholz (FAP), CH-8046 Zürich

**Spelzenbräune (*Septoria nodorum*) ist eine bedeutende Krankheit des Weizens. In der Züchtung kann die Auslese auf Resistenz gegen Spelzenbräune erst spät in der Sortenentwicklung erfolgen. Daher wäre es günstig, einen Test zu haben, mit dem schon früh resistente Zuchtstämme bestimmt werden könnten. Wir haben festgestellt, dass Rohextrakte des *Septoria*-Pilzes selektiv auf Winterweizen-Embryonen wirken.**

Viele pilzliche Krankheitserreger von Pflanzen bilden toxische Verbindungen, die am Entstehen der Krankheitssymptome und der daraus folgenden Schäden beteiligt sind. Toxine werden besonders von Krankheitserregern gebildet, die zuerst das pflanzliche Gewebe abtöten, um damit Nährstoffe freizusetzen. Die Resistenz gegen Toxine ist zum Teil verantwortlich für die Resistenz gegen diesen Krankheitserreger (zum Beispiel die Resistenz gegen *Helminthosporium carbonum* race 1 bei Mais, Meeley *et al.* 1992).

Der Erreger der Spelzenbräune von Weizen, *Septoria nodorum*, bildet Toxine, die pflanzliches Gewebe schädigen (siehe z.B. Tourand und Bosquet 1979). Der Beitrag dieser Toxine zu den Krankheitssymptomen und -schäden kann aufgrund bisheriger Studien nicht genau abgeschätzt werden. Einige der Toxine sind chemisch charakterisiert, andere sind noch unbekannt. Innerhalb des Genpools bei Weizen gibt es Sorten und Linien, welche resistent gegen Spelzenbräune sind (zusammengefasst durch Nelson und Marshall 1990). Fried und Meister (1987) fanden, dass die Resistenz gegen Spelzenbräune auf der Ähre und dem Blatt unabhängig voneinander vererbt wird. Beide Resistenzen beruhen auf mehreren, wiederum unabhängig voneinander vererbten Genen. Weil viel Land benötigt wird und der Arbeitsaufwand gross ist, wird in den Weizenzuchtprogrammen der Forschungsanstalt Zürich-Reckenholz die Anfälligkeit auf Spelzenbräune relativ spät genau bestimmt, das heisst erst bei Zuchtstämmen im Stadium der Leistungsprüfung (ab siebter bis achter Nachkommengeneration). Es wäre für die Züchtung deshalb von grosser Bedeutung, über einen Test zu

verfügen, mit dem schon in früheren Generationen auf Resistenz selektiert werden könnte.

Wir haben die Empfindlichkeit von Weizenembryonen für *Septoria*-Toxine untersucht. Embryonen aus Pflanzensorten, die eine unterschiedliche Resistenz gegen *Septoria*abfall auf der Ähre haben, zeigten auch *in vitro*, das heisst in der Gewebekultur, ein unterschiedliches Wachstum. Die Möglichkeit, diesen Test im Zuchtprogramm einzusetzen, wird gegenwärtig untersucht.

## Embryonenkultur

100 Weizenembryonen wurden im Stadium der Milchreife, 14 Tage nach der Blüte, auf Standardnährmedium aufgelegt (gemäss Murashige und Skoog 1962) und in einer Klimakammer bei 26 Grad Cel-

sus und einem 16 Stunden-Tag inkubiert. Nach zehn Tagen wurde bestimmt, bei welchen Embryonen ein Wachstum erfolgt war. Wenn das grüne Keimblatt deutlich ausgebildet war, wurden die keimenden Embryonen auf ein Embryonenmedium (Schmid *et al.* 1985), nach der Wurzelbildung auf ein Regenerationsmedium umgesetzt. 8 cm grosse Pflanzen wurden in Erde getopft und im Gewächshaus aufgezogen.

## Winterweizen ist für Embryonenkultur geeignet

Um die Eignung von ausgewählten Sorten aus eigenem und fremdem Zuchtmaterial zu testen, wurden Embryonen verschiedener Sorten auf Nährmedium gelegt. In den meisten Fällen war nach zehn Tagen ein kräftiges Wachstum sichtbar. Wenn bis zu diesem Zeitpunkt keine Zellvermehrung (Kallusbildung) sichtbar war, entwickelten sich die Embryonen auch später nicht. Bei sechs getesteten Winterweizen bildeten zwischen 4 % und 10 % der Embryo-



Abb.1. Weizenkalli mit wachsendem Spross auf MS Nährmedium, das *Septoria*-Rohextrakt enthält (10 Tage nach Auflegen der Embryonen).

**Tab. 1. Wachstum von Weizenembryonen verschiedener Weizensorten in Embryonenkultur**

100 Embryonen wurden auf Medium aufgelegt und zu Pflanzen regeneriert.

Sorte	Anteil der kallusbildenden Embryonen	Anteil der regenerierten, fruchtbaren Pflanzen
<b>Sommerweizen</b>		
Remia	4 %	4 %
Calanda	9 %	1 %
Sn+ (93884)	0 %	0 %
Walter	8 %	1 %
<b>Winterweizen</b>		
Arina	100 %	25 %
Forno	100 %	25 %
Bernina	57 %	13 %
Zenith	55 %	17 %
Sn+ (62284)	64 %	36 %
Sn- (73338)	41 %	16 %

nen einen Kallus, währenddem bei fünf Sommerweizen nur 0 % bis 9 % aller Embryonen wuchsen (Tab. 1). Nach zehn Tagen waren die Kalli etwa 4 mm gross (Abb. 1). Dann wurden sie zu ganzen Pflanzen regeneriert. Die Prozentzahlen der daraus entstandenen fruchtbaren Pflanzen sind ebenfalls in Tabelle 1 aufgeführt. Während bei Sommerweizen nur maximal 4 % fruchtbare Pflanzen beobachtet wurden, lag dieser Anteil bei den Winterweizen zwischen 13 % und 36 %. Das verwendete Standardverfahren für die Embryonenkultur erwies sich damit als geeignet für Winterweizen. Da die Auslese auf Septoria-Resistenz bei Winterweizen von grosser Bedeutung ist, wurde die beschriebene Methode der Embryokultur für eine mögliche *in vitro*-Selektion geprüft.

## Empfindlichkeit auf Septoria-Extrakt

Ein Rohextrakt von künstlich mit *Septoria nodorum* infizierten Weizenkörnern wurde gemäss Sachse (1992) hergestellt und in das MS Nährmedium gegeben, wie an anderer Stelle ausführlich beschrieben (Keller *et al.* 1994). Dieses Extrakt enthält von *Septoria nodorum* gebildete toxische Verbindungen. Verschiedene Konzentrationen wurden in das Embryonenmedium gegeben. Nach zehn Tagen wurde das Wachstum der Embryonen bonitiert. Wenn bis zu diesem Zeitpunkt kein deutliches Wachstum erkennbar war, war der Embryo tot. Wir testeten Embryonen von neun verschiedenen Winterweizensorten auf diesem Medium.

Bei konzentrierter Zugabe (Verdünnung 1:50 bis 1:200) dieses Extraktes zu dem Nährmedium wuchsen keine Embryonen mehr. Unterschiedliche Reaktionen der Embryonen verschiedener Sorten gab es mit einer Verdünnung zwischen 1:400 bis 1:800 (je nach Experiment und Rohextrakt). Die Prozentzahl wachsender Embryonen der verschiedenen Sorten ist in Tabelle 2 aufgeführt (Mittelwert aus zwei Jahren). Diese Zahl lässt sich korrelieren mit dem im Feld bestimmten Septoriabefall auf der Ähre und auf dem Blatt (Tab. 2). Die Krankheitsindizes der verschiedenen Sorten wurden aus den Werten der Felddonituren errechnet wie andernorts beschrieben (Keller *et al.* 1994). Während der Befall auf dem Blatt mit dem Embryonenwachstum schlecht korrelierte (Korrelationskoeffizient -0,32), gab es einen sehr guten Zusammenhang zwischen dem Befall auf der Ähre und dem Wachstum der Embryonen (Korrelationskoeffizient -0,94). Dies deutet darauf hin, dass die beobachtete Empfindlichkeit der Embryonen auf das Septoriaextrakt mit der Resistenz der Ähre gegen Septoria zusammenhängt. Die gute Korrelation von neun Weizensorten aus verschiedenen Zuchtprogrammen (Iena und Galaxie stammen aus einem französischen, Greif aus einem deutschen Zuchtprogramm) lässt darauf schliessen, dass die beobachteten Unterschiede bezüglich des Wachstums der Embryonen auf einem Septoria-Rohextrakt und der Resistenz der Ähre gegen Spelzenbräune allgemeine Gültigkeit haben.

Septoria-Rohextrakte wirken selektiv auf Embryonen. Embryonen von Genotypen mit erhöhter Resistenz gegen Septoriabefall auf der Ähre besitzen eine höhere Überlebensrate. Dieses Ergebnis könnte

einen schnellen und einfachen Test für Septoriaresistenz in jungem Zuchtmaterial ermöglichen (z.B. auf der Stufe von Einzelährennachkommen, vier bis fünf Jahre nach der Kreuzung in der F5 Generation). Weitere Untersuchungen zur Etablierung eines solchen Tests sind in Bearbeitung.

## LITERATUR

- Fried P.M. and Meister E., 1987. Inheritance of leaf and head resistance of winter wheat to *Septoria nodorum* in a diallel cross. *Phytopathology* **77**, 1371-1375.
- Keller B., Winzeler H., Winzeler M. and Fried P.M., 1994. Differential sensitivity of wheat embryos against extracts containing toxins of *Septoria nodorum*: First steps towards *in vitro* selection. *J. Phytopathol.*, im Druck.
- Meeley R.B., Johal G.S., Briggs S.P. and Walton J.D., 1992. A biochemical phenotype for a disease resistance gene of maize. *Plant Cell*, **4**, 71-77.
- Murashige T. and Skoog F., 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiol. Plant.* **15**, 473-479.
- Nelson L.R. and Marshall D., 1990. Breeding wheat for resistance to *Septoria nodorum* and *Septoria tritici*. *Advances in Agronomy* **44**, 257-277.
- Sachse J., 1992. Identification and characterization of mellein in cultures of the fungus *Septoria nodorum* (Berk.) by thin-layer and high performance chromatography. *J. Chromatogr.* **609**, 349-353.
- Schmid J., Winzeler H., Fried P.M. und Kleijer G., 1985. Anwendung der Antherenkulturmethode in der Getreidezüchtung der Schweiz. *Mitt. Schweiz. Landw.* **8**, 187-233.
- Tourand G. et Bousquet J.F., 1979. Activités physiologiques de l'ochracine, synthétisée par *Septoria nodorum* sur la croissance de plantules de riz et sur la synthèse «de novo» des alpha-amylases par les couches à aleurone du caryopse de blé. Interaction avec l'acide gibberelique. *Can. J. Bot.* **57**, 561-567.

**Tab. 2. Krankheitsindex für Septoriabefall verschiedener Weizensorten und Wachstum ihrer Embryonen auf Medium mit Septoriaextrakt**

Die Krankheitsindizes wurden aus Feldversuchen über drei Jahre, das Embryonenwachstum während zwei Jahren festgestellt.

Sorte	Index auf Blatt	Index auf Ähre	Embryonenwachstum in % der Kontrolle
Arina	28,5	14,5	74
Iena	37,3	14,8	61
Greif	27,5	18,8	62
SN+	23,5	19,3	47
Galaxie	36,3	22,5	50
Zenith	39,8	24,8	30
SN-	40,0	32,8	25
Forno	35,8	39,0	8
Boval	27,3	40,5	19
Korrelationskoeffizient Blatt <sup>1</sup> -0,32			
Korrelationskoeffizient Ähre: -0,94			

<sup>1</sup> Korrelation zwischen dem Krankheitsindex auf dem Blatt und dem Embryonenwachstum auf toxischem Medium.

## SUMMARY

### ***In vitro* culture of wheat embryos: Possibility to select for resistance against septoria nodorum blotch**

We have studied the behavior of winter and spring wheat varieties in embryo culture. Winter wheat grew well on the standard culture medium that was used whereas this medium would have to be adapted for spring wheat. Crude extracts from *Septoria nodorum*-infected and toxin containing plant material were added to the culture medium. Embryo growth on this medium was tested for several varieties. There was a good correlation between the resistance of the variety against septoria nodorum blotch on the ear and embryo growth on toxin containing media. The possibility of a rapid *in vitro* test for resistance against septoria nodorum blotch is discussed.

**KEY WORDS:** breeding, embryo culture, resistance, selection *Septoria nodorum* blotch, wheat

## RÉSUMÉ

### **Culture *in vitro* des embryos du blé: Possibilité d'une sélection pour la résistance contre la septoriose (*Septoria nodorum*)**

L'aptitude de différentes sortes de blé d'automne et de blé de printemps à la culture des embryos a été analysée. Le substrat nutritif standard employé est bien approprié pour le blé d'automne, mais devrait être adapté pour le blé de printemps. Des extraits bruts de plantes infectées avec *Septoria nodorum* et contenant des toxines furent ajoutés dans le substrat nutritif. La croissance des embryos de différentes sortes a été testée dans ce substrat. Il en résulte une bonne corrélation entre la résistance contre la septoriose sur l'épi et l'aptitude des embryos à se développer dans le substrat contenant des toxines. La possibilité d'un test rapide *in vitro* pour prouver la résistance contre la septoriose est discutée.

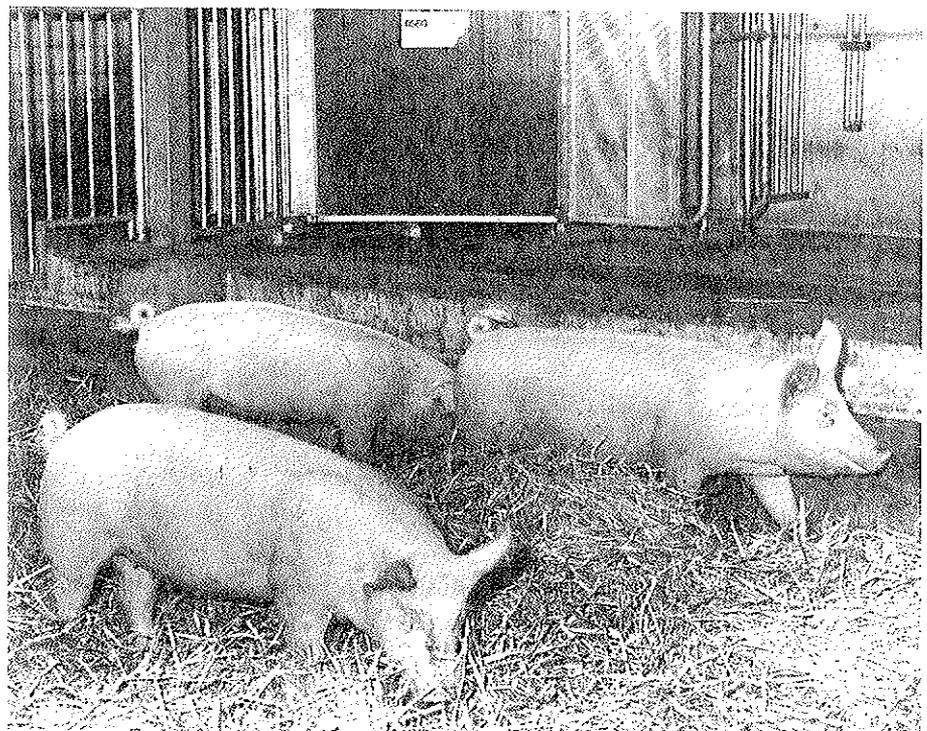
## Fütterungsempfehlungen und Nährwerttabellen für Schweine (GELBES BUCH) - 1. Auflage 1993

Die Fütterungsempfehlungen und Nährwerttabellen für Schweine (GELBES BUCH) der Eidgenössischen Forschungsanstalt für viehwirtschaftliche Produktion Posieux (FAG) können bezogen werden bei der Landwirtschaftlichen Lehrmittelzentrale, CH-3052 Zollikofen, FAX 031 911 49 25.

Eine optimale Fütterung der Mast-, Aufzucht- und Zuchtschweine erfordert die dem Leistungsniveau der Tiere angepasste Bedarfsdeckung mit Nährstoffen sowie Kenntnisse über den Nährstoffgehalt der einzelnen Futtermittel. Beides findet sich übersichtlich gegliedert und abgestimmt auf schweizerische Produktionsverhältnisse in dieser ersten Auflage. Die Fütterungsempfehlungen werden anhand von Rationenbeispielen für jede Tierkategorie in einem separaten Kapitel veranschaulicht. Ausserdem gibt je ein Kapitel Auskunft über die Fütterung in kritischen Perioden, über die Fütterung und Umweltbelastung sowie über die Fütterung und Schlachtqualität. Ein Kapitel ist der Futterbewertung von Einzel- und Mischfuttermitteln gewidmet. Am Schluss sind die bereits bekannten Nährwerttabellen für Schweine in

erweiterter und überarbeiteter Form aufgelistet. Die Daten zu den Nährwerttabellen sind wiederum als Diskettenver-

sion (ASCII-File) erhältlich und können in bestehende Programme eingelesen werden.



Die neuen Fütterungsempfehlungen und Nährwerttabellen für Schweine erlauben eine optimale Rationengestaltung der Mast-, Aufzucht- und Zuchtschweine (im Bild: Aufzuchtschweine im Offenfrontstall).