

Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft  
Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung  
IPZ 4b: Züchtungsforschung bei Futterpflanzen,  
Pflanzenbausysteme bei Grünland und Feldfutterbau



## **2. Zwischenbericht für den Zeitraum 01.04.2010 bis 31.03.2011**

### **Forschungsthema:**

**„Sicherung und Verbesserung der Verfügbarkeit von ökologisch erzeugtem Rotkleesaatgut durch die Entwicklung von Selektionsverfahren gegenüber samen- und bodenbürtigen Pilzkrankheiten zur Züchtung nachhaltig resistenter Sorten“**

Gefördert im Rahmen des Bundesprogrammes Ökologischer Landbau

**Förderkennzeichen:** 06OE161

**Projektlaufzeit:** 15.04.2009 - 31.03.2012

**Projektleiter:** Dr. Stephan Hartmann

**Projektbearbeiter:** Irene Jacob

### **Kooperationspartner:**

Agroscope Reckenholz-Tänikon ART, Zürich

Universität Rostock, Agrar- und umweltwissenschaftliche Fakultät, Institut für Landnutzung, Phytomedizin

Hochschule Weihenstephan, Forschungsanstalt für Gartenbau, Institut für Pflanzenschutz

Saatzucht Steinach GmbH

## Verwendete Abkürzungen

AKL	Alexandrinerklee
AP	Arbeitspaket
bspw.	beispielsweise
bzw.	beziehungsweise
ESP	Esparsette
GAL	Galega
GKL	Gelbklee
HKL	Hornklee
IKL	Inkarnatklee
LUZ	Luzerne
M	Meilenstein
PKL	Perserklee
PVC	Polyvinylchlorid
s.	siehe
spec.	species
V	Vorstufe
var.	varietas
WIS	Saatwicke
WIW	Winterwicke
WKL	Weißklee

## **1. Laut Arbeitsplan geplante Arbeitsschritte während des abgelaufenen Berichtszeitraumes**

M2: AP1/2: Ende Dezember 2010 sind weitere > 20 Rotkleeproben gesammelt und das vorhandene Pathogenspektrum isoliert worden. Die Pilze sind in Reinkultur genommen worden.

M4: AP3: Bis zum vierten Quartal 2010 sind mindestens zwei weitere auswertbare Infektionstests entwickelt worden.

M5: AP4: Bis März 2010 sind die ersten Sortentestungen für *Colletotrichum* und *Sclerotinia* abgeschlossen.

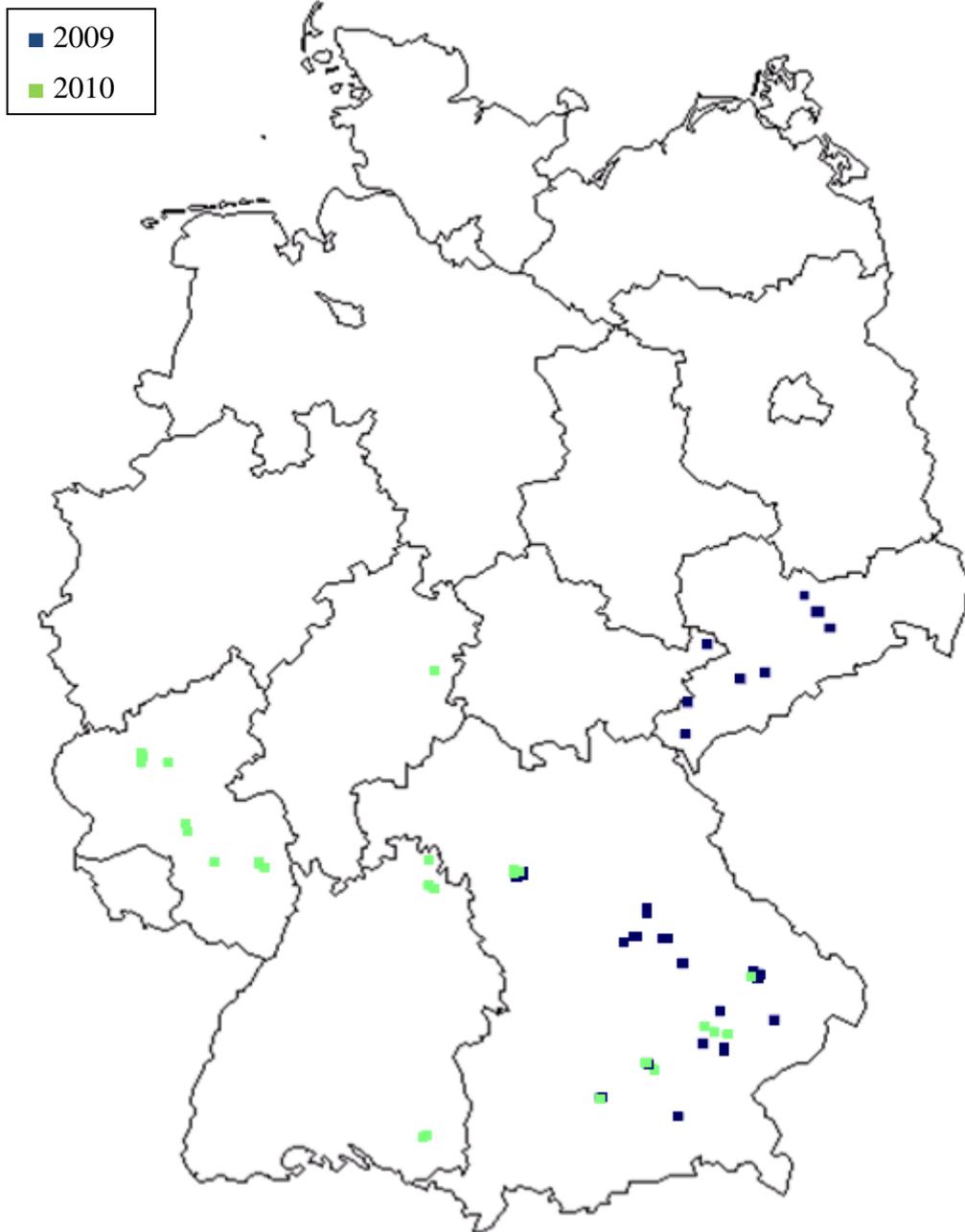
M6: AP4: Bis März 2011 sind die zweiten Testungsserien für *Colletotrichum* und *Sclerotinia* abgeschlossen. Die ersten Testungsserien für mindestens zwei weitere Pathogene sind abgeschlossen.

M8: AP5: Im zweiten Quartal 2010 ist die zweite Freilandversuchsserie ausgesät worden und die Versuche sind etabliert.

M10: AP7: Bis Juni 2010 sind Kreuzungen anfällig x resistent gelungen.

## **2. Tatsächlich durchgeführte Arbeitsschritte und erreichte Ziele**

**M2:** In der Vegetationsperiode des Jahres 2010 wurden insgesamt 56 Rotkleeproben sowohl von Praxisflächen zur Futter- oder Saatgutproduktion als auch aus Versuchspartzellen gesammelt, davon 12 Proben im Frühjahr des Jahres, 44 im Sommer (Sammlungsorte s. Abbildung 1 und Tabelle A1). Die vorhandenen Pathogene wurden bestimmt und isoliert.



**Abbildung 1: Sammlungsorte 2009 und 2010**

Von den 56 Proben konnte in acht Fällen ein Befall der Pflanze mit *Sclerotinia trifoliorum* nachgewiesen werden.

Ein Befall mit *Colletotrichum* spec. wurde bei zehn Proben festgestellt, davon wurde sechs Mal *C. trifolii* und vier Mal *C. destructivum* identifiziert. Diese Proben stammten bis auf eine Ausnahme von Versuchsflächen.

Als weitere Pathogene wurden *Fusarium spec.*, *Phoma spec.* sowie einmal *Leptosphaerulina trifolii* nachgewiesen. Am häufigsten trat hierbei *Fusarium spec.* auf, dieser Erreger wurde an zehn Pflanzenproben gefunden. *Phoma spec.* ließ sich an sechs Proben nachweisen.

27 Rotkleeproben wiesen keinen Befall mit pilzlichen Pathogenen auf.

**M4:** Mit der Entwicklung eines weiteren Resistenztests wurde im April 2010 begonnen. Als Erreger wurde hierfür *Phoma medicaginis* ausgewählt.

**M5:** Die ersten Sortentestungen im Rahmen des *Sclerotinia trifoliorum*-Resistenztests wurden bereits Ende Februar 2010 beendet. Die Sortentestungen für *Colletotrichum trifolii* wurden Anfang April 2010 abgeschlossen.

**M6:** Die zweite Sortentestung für *Colletotrichum trifolii* wurde Ende Januar 2011 beendet. Die zweiten Sortentestungen für *Sclerotinia trifoliorum* wurden im März 2011 beendet.

**M8:** Die zweite Freilandversuchsserie wurde Anfang des zweiten Quartals 2011 angelegt. Dazu wurde am 19.04.2010 ein Versuch nahe der Versuchsstation in Viehhausen (Landkreis Freising, Abbildung 2) und ein Versuch im Umfeld der Saatzucht Steinach angesät. Die Versuche sind etabliert.

Der in 2009 in Hohenkammer angelegte Versuch musste aufgrund starker Schäden durch Auswinterung, Mäuse und Maulwurf im April 2010 umgebrochen und neu angelegt werden. Hierzu erfolgte eine Frühjahrsansaat im zweiten Quartal 2010. Aufgrund der einsetzenden Trockenperiode nach der Aussaat konnte allerdings nur ein schlechter Aufgang verzeichnet werden, so dass im August 2010 erneut eine Nachsaat erfolgen musste.



**Abbildung 2: Versuchsanlage in Viehhausen**

**M10:** Im Rahmen der im November 2009 begonnenen Pärchenkreuzungen wurden bereits gezielt Kreuzungspartner ausgewählt. Kreuzungen zwischen gegen *C. trifolii* anfälligen und resistenten Sorten sind gelungen. Das Ziel des Arbeitspaketes 7 wurde somit vorzeitig erreicht.

### **3. Vergleich des Projektstandes mit dem verbindlichen Arbeits-, Zeit- und Finanzierungsplan**

**M2:** Im Jahr 2010 wurden insgesamt 56 Pflanzenproben von Praxis- und Versuchsflächen entnommen. Der angestrebte Probenumfang von > 20 Proben wurde somit entscheidend übertroffen.

Die Proben stammten in erster Linie von Flächen zur Saatgutproduktion, aber auch von Futter- und Versuchsflächen. Neben Rotklee wurden auch andere Futterpflanzen in die Sammlung mit einbezogen (Weißklee, Luzerne). Die Sammlung erfolgte in enger Zusammenarbeit mit den Saatgutankennungsstellen der Länder sowie mit Betreuern der Landessortenversuche.

Über die Hälfte der gesammelten Proben (61 %) stammte von Flächen, die ökologisch bewirtschaftet werden.

Wie bereits in 2009 lässt sich die eher geringe Anzahl der gewonnenen *Colletotrichum*-Isolate mit dem allgemein gesunden Zustand der Rotkleeermehrungsflächen erklären.

**M4:** Erste Infektionsversuche für den Erreger der Stängelschwärze, *Phoma medicaginis*, wurden mit zwei verschiedenen Isolaten (*Phoma medicaginis* und *Phoma medicaginis* var. *pinodella*) an vier unterschiedlichen Rotkleesorten durchgeführt. Die Isolate stammten aus der Deutschen Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen (DSMZ) GmbH in Braunschweig und wurden getrennt voneinander hinsichtlich ihrer Pathogenität getestet.

Nach einer zehnwöchigen Anzucht der Pflanzen erfolgte die Inokulation mit einem Chromatographie-Zerstäuber mit anschließender sechstägiger Inkubationszeit unter einer PVC-Plane. Die Bonituren der Pflanzen erfolgten zu mehreren Zeitpunkten bis zur zehnten Woche nach der Inokulation. Da bis zu diesem Zeitpunkt keine Symptome an den Pflanzen auftraten, wurde dieser erste Infektionsversuch abgebrochen.

Es ist möglich, dass die verwendeten Isolate eine geringe Pathogenität besaßen, so dass der Versuch mit aus den Probensammlungen 2009 und 2010 stammenden *Phoma*-Isolaten wiederholt werden soll.

Die Entwicklung eines weiteren Resistenztests scheint nach derzeitigem Kenntnisstand und aufgrund des in den Probensammlungen gewonnenen Überblicks über die an Rotklee auftretenden pilzlichen Pathogene nicht erforderlich.

**M5:** Die ersten Sortentestungen für *Colletotrichum* und *Sclerotinia* im Gewächshaus konnten im angestrebten Zeitraum beendet werden.

**M6:** Die zweiten Sortentestungen für *Colletotrichum* und *Sclerotinia* im Gewächshaus konnten im angestrebten Zeitraum beendet werden.

**M8:** Die zweite Freilandversuchsserie wurde im zweiten Quartal ausgesät und die Versuche sind etabliert.

**M10:** Durch die gezielte Auswahl von Kreuzungspartnern der im November 2009 begonnenen Pärchenkreuzungen konnten bereits im Januar 2010 Samen von Kreuzungen resistenter mit anfälligen Sorten geerntet werden. Das Ziel des Arbeitspaketes 7 wurde somit vorzeitig erfüllt.

Im Rahmen des Projektes wurden damit alle Arbeitsziele innerhalb der Zeitvorgaben erfüllt. Der Finanzierungsplan wurde eingehalten bzw. durch notwendige Umschichtungen an das Projektgeschehen angepasst.

## **4. Wichtige Ergebnisse und andere wesentliche Ereignisse des Berichtszeitraumes - Zusammenfassung**

### **4.1 Probensammlung**

Wie auch schon im Vorjahr zeigten sich die beprobten Vermehrungsflächen in einem überwiegend gesunden Zustand. Die diesjährige Probensammlung erstreckte sich auf Gebiete in Bayern, Baden-Württemberg, Rheinland-Pfalz und Hessen. Zusammen mit den Proben aus 2009 wird so mit der bisherigen Probensammlung ein großer Teil Süddeutschlands abgedeckt.

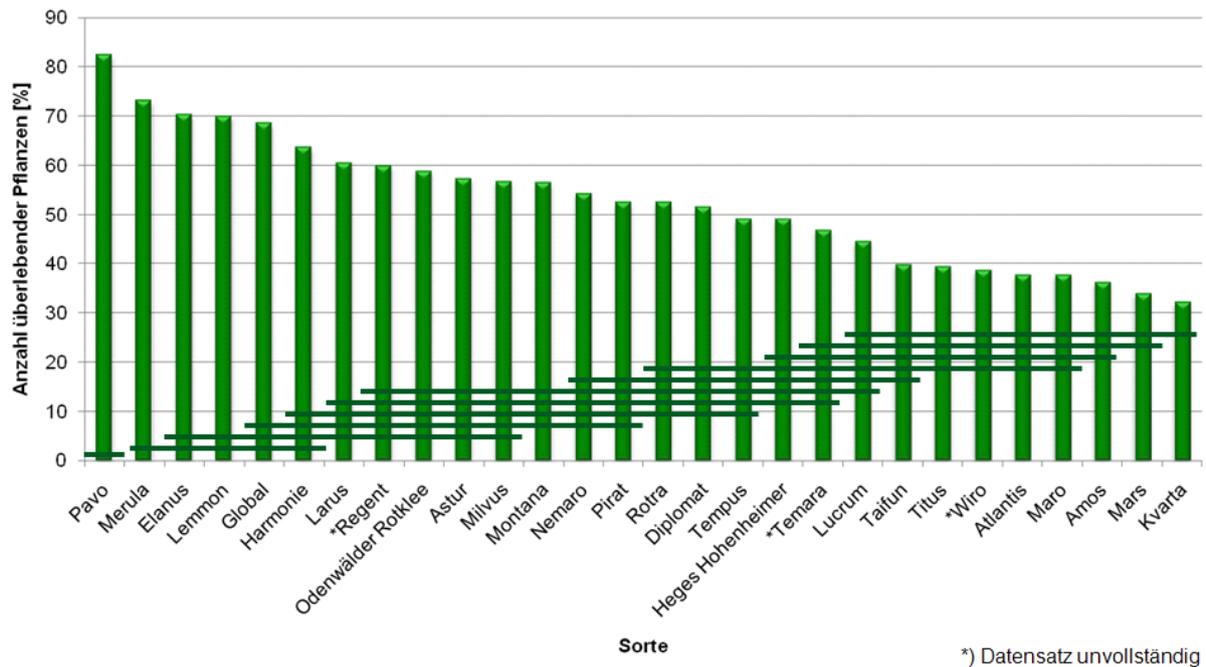
Aufgrund der Trockenperiode im Frühsommer wurden größere Ausfälle auf den Praxisflächen beobachtet, was zu teilweise sehr ausgedünnten Beständen geführt hat. Schäden durch pilzliche Erreger wurden, auch nach Angaben der Vermehrer und Saatenanerkenner, in den Sommermonaten nicht beobachtet.

Auf den Versuchsflächen hingegen scheint der Befallsdruck mit *Colletotrichum trifolii* höher zu sein. In Bayern, Baden-Württemberg und Hessen wurden Rotkleeproben von verdächtigen oder bereits für die Krankheit bekannten Flächen entnommen. Im Labor konnte *C. trifolii* nachgewiesen werden.

Ein Grund für den erhöhten Krankheitsdruck sind zum einen der Anbau mehrerer verschiedener Saatgutherkünfte auf kleiner Fläche, zum anderen die in einigen Fällen wiederkehrende Nutzung der Fläche als Versuchsstandort. Auch der räumliche Abstand zu anderen Versuchen, in denen Rotklee angebaut wird, ist unter Umständen geringer als in der Praxis üblich.

### **4.2 Resistenztest gegen Anthracnose (*Colletotrichum trifolii*)**

Die Sortenprüfungen der vergangenen zwei Jahre hinsichtlich der Resistenz gegen *C. trifolii* im Gewächshaus lassen sich zusammen mit Ergebnissen aus zwei vor dem Projektzeitraum durchgeführten Prüfungen zu einem Ranking der geprüften Sorten zusammenfassen (Abbildung 3).



**Abbildung 3: Anthracoseresistenztest: Sortenranking basierend auf vier Wiederholungen des Versuches, Anzahl überlebender Pflanzen sieben Wochen nach der Inokulation. Linien zeigen nicht-signifikante Unterschiede. P = 0,05 (SNK).**

Die in Deutschland zugelassenen Sorten variieren in ihrer Resistenz gegen den Erreger stark und lassen sich deutlich in resistente und anfällige Sorten unterscheiden.

Auf den angelegten Versuchsflächen wurde zwar bereits an zwei Standorten (Steinach und Viehhausen) ein Befall mit *Colletotrichum trifolii* beobachtet, allerdings tritt dieser Befall derzeit nur örtlich begrenzt in einigen Parzellen auf. Eine Verteilung über die Fläche und somit eine Differenzierung der Sorten ist noch nicht erkennbar. Die Ergebnisse des Resistenztests im Gewächshaus können somit noch nicht mit Erkenntnissen aus dem Freiland untermauert werden.

Zusätzlich zu den geplanten Arbeitsschritten des Projektes wurden im Winter 2009/2010 erstmalig andere Futterpflanzenarten in diesen Resistenztest integriert, da sich die Frage stellte, wie sich bspw. Luzerne oder Weißklee als Alternative zu Rotklee im Falle eines Auftretens der Krankheit hinsichtlich der Resistenz gegen *C. trifolii* eignen. Diese Fragestellung trat zudem immer wieder in Gesprächen mit u.a. Beratern von Ökoverbänden auf.

Es wurden einige der in Deutschland zugelassenen Sorten diverser Leguminosenarten getestet (Tabelle 1 und 2).

**Tabelle 1: Anthracoseresistenztest 2009/2010: Versuchsglieder (außer Rot- klee)**

VGL	Sorte	Art
29	Merlyn	WKL
30	Pirouette	WKL
31	Riesling	WKL
32	Vysocan	WKL
33	Planet	LUZ
34	Plato	LUZ
35	Sanditi	LUZ
36	Verko	LUZ
37	Bull	HKL
38	Oberhaunstädter	HKL
39	Rocco	HKL
40	Heuser's Otsaat	IKL
41	Linkarus	IKL
42	Alex	AKL
43	Ekola	GKL
44	Matra	ESP
45	Bermina	WIS
46	Berninova	WIS
47	Ebena	WIS
48	Otsaat Dr. Baumanns	WIW
49	Welta	WIW

**Tabelle 2: Anthracoseresistenztest 2010/2011: Versuchsglieder (außer Rot- klee)**

VGL	Sorte	Art
29	Merlyn	WKL
30	Pirouette	WKL
31	Riesling	WKL
32	Vysocan	WKL
33	Lirepa	WKL
34	Planet	LUZ
35	Plato	LUZ
36	Sanditi	LUZ
37	Verko	LUZ
38	Alpha	LUZ
39	Daphne	LUZ
40	Fee	LUZ
41	Filla	LUZ
42	Fraver	LUZ
43	Bull	HKL
44	Oberhaunstädter	HKL
45	Rocco	HKL
46	Heuser's Otsaat	IKL
47	Linkarus	IKL
48	Alex	AKL
49	Winner	AKL
50	Ekola	GKL
51	Matra	ESP
52	Gorby	PKL
53	( <i>Galega officinalis</i> )	GAL

Für einige dieser Arten erwies sich die Methode des durchgeführten Resistenztests jedoch als ungeeignet, so dass nicht alle geprüften Arten hinsichtlich ihrer Resistenz gegen den Erreger *C. trifolii* beurteilt werden können. So zeigten sich die die Anzuchtgefäße (Quickpot™) für die *Vicia*-Arten aufgrund deren Wuchstypes als nicht tauglich. Die *Vicia*-Arten wurden deshalb im zweiten Versuch nicht mehr angebaut.

Für einschnittige Arten bzw. Sorten (bspw. AKL „Alex“) wurden die Rückschnitte des Versu- ches angepasst.

Es können nun erste Einschätzungen zur Resistenz der geprüften Arten im Vergleich zu Rot- klee getroffen werden.

Die für das zweite Drittel des Projektzeitraumes angestrebten Zielsetzungen sind erreicht und sinnvoll ergänzt worden.

## Anhang

**Tabelle A 1: Probensammlung 2010**

Nr.	Lage	Höhenmeter [m über NN]	Sorte	Datum	ökologisch	konventionell	Erreger
	N E						
0	Hilgertshausen		Titus	30.03.2010	x		<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
1	48°22.165' 011°42.932'		div.			x	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
2	Hilgertshausen		Titus	08.04.2010	x		<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
3	48°55.470' 012°39.024'	325	div.	13.04.2010	x		<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
4	48°23.964' 011°38.720'		div.	15.04.2010	x		<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
5	Versuchsstation Steinach		div.	21.04.2010		x	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
6	48°56.866' 012°38.614'		div.	21.04.2010		x	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
7	48°56.866' 012°38.614'		div.	21.04.2010		x	
8	Am Labor Freising		div.	29.04.2010		x	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
10	48°22.165' 011°42.932'		WKL	29.04.2010		x	
12	Versuch Hohenkammer		LUZ	29.04.2010	x		<i>Leptosphaerulina trifolii</i>
13	48°55.470' 012°39.024'	325	div.	29.04.2010	x		<i>Fusarium spec.</i> , <i>Phoma spec.</i>
14	49°35.161' 010°30.237'	346	Titus	26.07.2010	x		<i>C. destructivum</i>
15	49°35.145' 010°26.950'	370	Nemaro	26.07.2010	x		<i>Phoma spec.</i>
16	49°35.142' 010°26.950'	373	Nemaro	26.07.2010	x		
17	49°35.142' 010°26.950'	373	Titus	26.07.2010	x		
18	49°34.910' 010°29.622'	360	Titus	26.07.2010	x		<i>Fusarium spec.</i>
19	49°34.978' 010°29.511'	346	Titus	26.07.2010	x		
20	50°15.381' 006°56.986	520	Merviot	27.07.2010		x	<i>Phoma spec.</i> , <i>Fusarium spec.</i> , <i>Leptosphaerulina trifolii</i>
21	50°15.580' 006°57.331	500	Merviot	27.07.2010		x	
22	50°15.75' 006°57.332'	509	Merviot	27.07.2010		x	

Nr.	Lage		Höhenmeter [m über NN]	Sorte	Datum	ökologisch	konventionell	Erreger
	N	E						
23	50°15.839'	006°57.374'	513	Merviot	27.07.2010		x	
24	50°12.217'	006°56.731'	448	Merviot	27.07.2010		x	<i>Fusarium spec.</i>
25	50°12.959'	007°11.470'	389	Merviot	27.07.2010	x		
26	49°50.124'	007°22.798'	401	Merviot	27.07.2010	x		<i>Phoma spec.</i>
27	49°36.627'	007°39.695'	395	LUZ Plato	27.07.2010	x		
28	49°35.879'	008°06.433'	296	LUZ Plato	27.07.2010	x		
29	49°29.567'	009°39.297'	258	Odenwälder V	28.07.2010	x		
30	49°29.549'	009°39.197'	265	Odenwälder V	28.07.2010	x		
31	49°29.718'	009°39.505'	292	Odenwälder V	28.07.2010	x		
32	49°29.648'	009°39.699'	276	Odenwälder V	28.07.2010	x		<i>Phoma spec.</i>
33	49°39.919'	009°39.179'	282	Odenwälder V	28.07.2010	x		<i>Phoma spec.</i>
34	49°29.098'	009°40.993'	330	Odenwälder V	28.07.2010	x		
35	49°30.0352'	009°38.227'	284	Odenwälder V	28.07.2010	x		
56	Landshut Schön- brunn, Wolfsteiner Au				29.07.2010	x		
57	Dietldorf (bei Re- gensburg)				29.07.2010	x		
36	48°23.958'	011°38.740'	499	div.	02.08.2010	x		
37	47°56.785'	009°37.229'	597	div.	04.08.2010		x	<i>Fusarium spec.</i> , <i>C. destructivum.</i> + <i>C. trifolii</i>
38	47°56.366'	009°37.657'	604	div.	04.08.2010		x	<i>Fusarium spec.</i> , <i>C. trifolii</i>
39	47°57.526'	009°38.534'	568	div.	04.08.2010		x	
40	48°22.165'	011°42.932'	460	div.	04.08.2010		x	<i>C. destructivum</i>
41	48°22.165'	011°42.932'	460	div.	04.08.2010		x	
42	48°22.165'	011°42.932'	460	div.	04.08.2010		x	<i>Fusarium spec.</i>
43	48°21.948'	011°42.863'	460	div.	04.08.2010		x	<i>Fusarium spec.</i> , <i>C. destructivum</i> + <i>C. trifolii</i>
44	48°55.470'	012°39.024'	325	div.	16.08.2010	x		<i>Fusarium spec.</i>

Nr.	Lage		Höhenmeter [m über NN]	Sorte	Datum	ökologisch	konventionell	Erreger
	N	E						
45	48°11.379'	011°12.875'	496	div.			x	
46	48°11.379'	011°12.875'	496	div.			x	<i>Fusarium spec.</i>
47	50°49.790'	009°40.800'	225	div.	26.08.2010		x	<i>C. trifolii</i>
48	48°55.470'	012°39.024'	325	div.	07.09.2010	x		
49	48°55.470'	012°39.024'	325	div.	08.09.2010	x		
50	48°23.958'	011°38.740'	499	div.	14.09.2010	x		<i>C. trifolii</i> , <i>Fusarium spec.</i>
51	48°35.536'	012°15.543'	375	RKL, LUZ, WSC	16.09.2010	x		
52	48°33.952'	012°22.631'	481	div.	16.09.2010	x		
53	48°37.276'	012°10.303'	463	WKL, RKL, LUZ	16.09.2010	x		
54	48°55.470'	012°39.024'	325	Titus	07.10.2010	x		<i>C. trifolii</i>
55	Thermalbad Wiesen- bad				17.10.2010		x	