

Genetische Variation des Merkmals Trockentoleranz in Deutschem Weidelgras (*Lolium perenne* L.) - Evaluierung phänotypischer Selektionsmerkmale

Genetic variation of drought tolerance in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.) - evaluation of phenotypic selection traits

Peter Westermeier^{1*}, Evelin Willner², Andrea Wosnitza¹, Ulf Feuerstein³,
Wilbert Luesink⁴, Sabine Schulze⁵, Annegret Schum⁶, Stephan Hartmann¹

Abstract

In the future, global climate change is expected to limit yields in agricultural production due to water shortage in the periods relevant for plant growth. This will also affect perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.), one of the most important grass species in Europe. One of the most promising approaches to overcome this problem is the genetic improvement of drought tolerance by breeding new varieties. In the presented project 200 accessions comprising *L. perenne* accessions from 20 countries and breeding material as well as some checks from drought tolerant grass species were tested in field trials at drought prone locations. The tested material showed large genetic variation for biomass production under drought conditions. Subsets of this material were tested for drought tolerance under controlled conditions in rain-out shelter, greenhouse and laboratory trials. The subsets of 20 and 50 accessions were used for measuring agronomic performance and detailed phenotyping under controlled drought conditions. Phenotypic traits for a high-throughput recording of drought response of either single plants or plots were tested and compared with yield data. Most of the tested traits showed high heritabilities on a plot as well as on single plant basis and high correlations with yield data were found. The visual scoring of biomass was found to be a suitable selection criteria. In our testset, tetraploid accessions were found to be more drought tolerant than diploid accessions, but drought response seems to be independent from flowering time. Single clones with different drought response could be selected for building segregating populations.

Keywords

controlled drought conditions, drought stress, phenotyping, perennial ryegrass, rain-out shelter

Einleitung

Der globale Klimawandel wird wesentlichen Einfluss auf die Pflanzenproduktion in Mitteleuropa haben. Die im 5. Sachstandsbericht des *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) erwarteten Auswirkungen stellen sich in Form von steigenden Durchschnittstemperaturen sowie sich ändernden Niederschlagsverteilungen dar (IPCC 2013). Negativ auf die Erträge vieler landwirtschaftlicher Kulturen wird sich die Häufung von Wetterextremen, wie Starkniederschläge und Überschwemmungen, sowie Hitzewellen und Trockenheit auswirken (HOV et al. 2013). In einer früheren Studie, die die Auswirkungen des Klimawandels auf den süddeutschen Raum untersuchte, wurde festgestellt, dass in diesem Gebiet im Sommerhalbjahr zwar die Niederschlagsmenge insgesamt gleich bleibt, jedoch die Anzahl an Trockentagen zunehmen wird (KLIWA 2005). Dadurch wird der Gehalt des Bodens an pflanzenverfügbarem Wasser größeren Schwankungen unterliegen als bisher, was zu trockenheitsbedingten Schäden an Pflanzen mit der Folge von Ertragsrückgängen und Ertragsausfällen führen wird (LOBELL und GOURDJI 2012).

Gerade Gräser werden überwiegend mehrjährig genutzt und sind dadurch während der Nutzungszeit vielfältigen Umweltbedingungen ausgesetzt, u.a. möglicherweise mehreren Trockenperioden. Zudem befinden sich Grünlandflächen häufig in Grenzlagen, darunter auch heute schon trockengefährdete Lagen, was verdeutlicht, dass Grünlandbestände in besonderem Maße von den Auswirkungen des Klimawandels betroffen sein werden. Da technische Maßnahmen wie künstliche Bewässerung gerade im Grünland nicht wirtschaftlich durchgeführt werden können, erscheint die züchterische Bearbeitung des Merkmals Trockentoleranz besonders zielführend für die künftige Ertragssicherung.

Das Zielmerkmal der züchterischen Selektion „Ertrag unter Trockenstress“ ist stark von Umweltbedingungen beeinflusst. Daher ist bei einer direkten Selektion auf das

¹ Bayerische Landesanstalt für Landwirtschaft - Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Am Gereuth 4, 85354 FREISING, Deutschland

² IPK Gatersleben - Genbank Teilsammlungen Nord, Inselstraße 9, 23999 MALCHOW/POEL, Deutschland

³ Deutsche Saatveredelung AG, Weissenburger Straße 5, 59557 LIPPSTADT, Deutschland

⁴ Norddeutsche Pflanzenzucht Hans-Georg Lembke KG, Hohenlieth, 24363 HOLTSEE, Deutschland

⁵ Saatzucht Steinach GmbH & Co KG, Wittelsbacherstraße 15, 94377 STEINACH, Deutschland

⁶ Julius Kühn Institut, Institut für Resistenzforschung und Stresstoleranz, Rudolf Schick-Platz 4, 18190 GROSS LÜSEWITZ, Deutschland

* Ansprechpartner: Peter WESTERMEIER, peter.westermeier@LfL.bayern.de



Merkmal aufgrund von niedrigen Heritabilitäten der zu generierende Zuchtfortschritt verhältnismäßig gering. Aus diesem Grund werden in der Trockentoleranzzüchtung häufig sekundäre Selektionsmerkmale verwendet, die einerseits eine gute Heritabilität und gleichzeitig eine hohe Korrelation mit dem Zielmerkmal besitzen. Auf diese Weise lässt sich der Zuchtfortschritt beschleunigen.

Das vorgestellte Projekt zur Trockentoleranz bei Deutschem Weidelgras hatte folgende Ziele: (i) Erfassung der phänotypischen Variation des Merkmals Trockentoleranz in Deutschem Weidelgras anhand eines 200 Akzessionen umfassenden Diversitätssortiments, (ii) Evaluierung und Optimierung von sekundären Selektionsmerkmalen zur Bestimmung der Toleranz gegenüber Trockenstress und Vergleich mit dem Zielmerkmal „Ertrag unter Trockenstress“, (iii) Weitergabe von Material und Methoden an die Züchter, um die Effizienz der Selektion in den Zuchtprogrammen zu erhöhen, und (iv) Selektion von Kandidatenklonen zum Aufbau genetischer Ressourcen für weiterführende Arbeiten.

Material und Methoden

Projektaufbau und Versuchsanlagen

Die Projektarbeiten waren in fünf Arbeitspakete gegliedert. In Arbeitspaket 1 wurden 200 diverse Akzessionen unter natürlichen Trockenstressbedingungen geprüft und daraus Subsets von in ihrer Trockenstressantwort möglichst diversen Akzessionen für die folgenden Arbeitspakete selektiert. Das komplette Sortiment wurde in den Jahren 2012 und 2013 an vier Standorten in Deutschland (Bornhof, Kaltenhof, Malchow und Triesdorf) sowie an einem Standort in Frankreich (Les Rosiers sur Loire) in jeweils 4 Wiederholungen in einer 20×10 Alphagitteranlage geprüft.

In Arbeitspaket 2 wurden im Jahr 2013 20 Akzessionen an insgesamt vier Standorten einer Leistungsprüfung mit mehrschnittiger Ertragsfeststellung unterzogen. Die Versuche wurden in vier Wiederholungen in einer randomisierten Blockanlage durchgeführt. Arbeitspaket 3 hatte die Prüfung von 50 selektierten Akzessionen unter kontrollierten Trockenbedingungen im *rain-out shelter* zum Gegenstand. Die Standorte der beiden *rain-out shelter* waren Kaltenhof auf der Insel Poel und Pulling bei Freising. Von jeder Akzession wurden zwei Wiederholungen als randomisierte Blockanlagen angelegt, die sich aus jeweils 20 Einzelpflanzen zusammensetzten. Die Einzelpflanzen wurden vor der Versuchsanlage im Herbst 2012 verklont, so dass im Jahr 2013 an beiden Standorten die identischen Genotypen geprüft werden konnten. Im Jahr 2013 wurden in beiden *rain-out shelter* jeweils zwei Trockenstressphasen simuliert, die Erste zwischen dem ersten und zweiten Schnitttermin im Frühjahr und die Zweite im Sommer zwischen drittem und viertem Schnitt. Die identischen Klone waren auch Grundlage für die Untersuchungen in Arbeitspaket 4. Unter Labor- und Gewächshausbedingungen wurden diese Klone, neben verschiedenen Tests im Keimlingsstadium, unter artifiziellen und damit gut charakterisierbaren Trockenstressbedingungen geprüft. Arbeitspaket 5 hat zur Aufgabe, die Daten aus allen Arbeitspaketen zusammenzufassen und gemeinsam auszuwerten. Die dargestellten Verrechnungen wurden

mit der Statistiksoftware R (R DEVELOPMENT CORE TEAM 2013) bzw. dem Statistikpaket Plabstat 3A (UTZ 2005) durchgeführt.

Pflanzenmaterial

Gegenstand der Untersuchungen waren insgesamt 200 diverse Grasakzessionen, die sich wie folgt zusammensetzten: 75 Akzessionen von *Lolium perenne* L. wurden von der Genbank IPK-Gatersleben zur Verfügung gestellt; 73 davon hatten eine diverse geographische Herkunft in Europa, die von Skandinavien bis Südeuropa reichte und zwei Akzessionen waren in Vorderasien beheimatet. Zusätzlich wurden von den beteiligten Züchterhäusern 111 Akzessionen von deutschem Weidelgras zur Verfügung gestellt, die sich aus aktuellen Sorten und Sortenkandidaten zusammensetzten. Ergänzt wurde das Diversitätsset durch Grasarten mit hoher Trockentoleranz. Dies waren im Einzelnen zehn Akzessionen des Wiesenschweidels (*Festulolium* Aschers. et Graebn.), sowie je zwei Akzessionen von Wiesenschwingel (*Festuca pratensis* Huds.) und Rohrschwingel (*Festuca arundinacea* Schreb.).

Merkmalerhebung

In allen Versuchen wurden im Jahr 2013 zwischen vier und sechs Schnitttermine realisiert, die entweder als Schröpfschnitt durchgeführt wurden oder der Ertragsbestimmung dienten. An den Schnittterminen orientierten sich i.d.R. auch jeweils die durchgeführten visuellen Bonituren. Dies waren im Einzelnen die visuelle Bonitur der Massenbildung auf einer Skala von 1 bis 9, wobei 1 ein einzelner grüner Trieb je Pflanzenhorst war und 9 ein außerordentlich wüchsiger Pflanzenhorst. Diese Bonitur wurde sowohl direkt vor dem Schnitt (MBVSC) bzw. zehn Tage nach dem Schnitt (MBNSC) durchgeführt. Daneben wurde der visuelle Eindruck der Pflanzen unter Trockenstress (DURESD) auf einer Skala von 1 bis 9 erfasst, wobei 1 starke und 9 keine Trockenstresssymptome anzeigten. In diesem Merkmal wurden Reaktionen der Pflanzen auf Trockenstress wie Welke, Rollen der Blätter oder Gelbfärbung erfasst. In den *rain-out shelter* Versuchen wurden zusätzlich noch die Anzahl der lebenden Pflanzen (AZ) erfasst.

Ergebnisse und Diskussion

Die durchgeführten Untersuchungen in Arbeitspaket 1 umfassten ein breites Sortiment von Herkünften, die sowohl aktuelle Sorten und Sortenkandidaten als auch historische Sorten und Wildsammlungen aus der deutschen Genbank (IPK-Gatersleben) umfassten. Nahezu alle visuell erhobenen Merkmale wiesen hohe Heritabilitäten bei der Verrechnung über Orte auf (*Tabelle 1*). Eine Ausnahme stellt hier die visuelle Bonitur der Trockenstressantwort (DURESD) dar. Bei der Verrechnung über drei Standorte konnte keine signifikante genotypische Varianz aber eine hochsignifikante Ortsvarianz (Daten nicht gezeigt) festgestellt werden. Damit konnte aufgrund eines starken Ortseinflusses über die Orte hinweg keine Heritabilität ermittelt werden. Betrachtet man jedoch den Standort Les Rosiers sur Loire separat, so konnte hier eine Wiederholbarkeit von 57,9% festgestellt werden. Der Grund dafür ist, dass an diesem Standort

Tabelle 1: Heritabilitäten (h^2) und Signifikanz der genotypischen Varianzkomponente (σ^2_G) in der mehrortigen Verrechnung (Arbeitspaket 1, Vegetationsperiode 2013)

Table 1: Heritabilities (h^2) and significance of the genotypic variance component (σ^2_G) in the multi-location analysis (work package 1, growing season 2013)

Merkmal ¹	Versuchsort ²				h^2	σ^2_G
	MAL	KAL	ROS	TRS		
MBANF	×	×			86,06	**
MBVSC1		×		×	69,47	**
MBVSC2	×	×		×	70,52	**
MBVSC4		×		×	54,61	**
MBNSC2		×		×	54,19	**
DURESD		×	×	×	0,00	-

¹ MBANF, Massenbildung in der Anfangsentwicklung; MBVSC, Massenbildung vor dem jeweiligen Schnittermin; MBNSC, Massenbildung zehn Tage nach Schnittermin; DURESD, visuelle Trockenstressbonitur

² MAL, Malchow; KAL, Kaltenhof; ROS, Les Rosiers sur Loire; TRS: Triesdorf

ein ausgeprägter Trockenstress aufgetreten war, der eine ausreichende Differenzierung der Merkmalsausprägung ermöglichte. An den beiden anderen Standorten traten im Untersuchungsjahr 2013 nur milde Stressbedingungen auf, die in diesem Merkmal keine ausreichende Differenzierung und damit keine Vergleichbarkeit über Orte hinweg ermöglichte. Die Massenbildungsbonituren über Orte hinweg lieferten jedoch sowohl innerhalb der einzelnen Orte gute Wiederholbarkeiten (Daten nicht gezeigt), sowie gute Heritabilitäten über Orte hinweg (Tabelle 1), so dass zur Bewertung der einzelnen Akzessionen hauptsächlich die Massenbildungsbonituren herangezogen wurden und die Bonitur der Trockenstressantwort als unterstützendes Merkmal in der Selektion.

Hinsichtlich der im Untersuchungssortiment enthaltenen Materialgruppen diploid/tetraploid konnten im Jahr 2013 sowohl für das Merkmal der visuellen Trockenstressantwort am Standort Les Rosiers sur Loire, als auch für die Bonitur der Massenbildung nach Schnittermin 4 signifikante Unterschiede festgestellt werden (Abbildung 1A). Die tetraploiden Vertreter im Sortiment wiesen dabei im Mittel eine größere

Trockentoleranz, als auch eine höhere Massenbildung auf, wenngleich auch einzelne Vertreter aus der diploiden Materialgruppe eine sehr gute Trockentoleranz zeigten. Die Ursachen für diese im untersuchten Sortiment gemachten Beobachtung könnten zum einen in der durch den Ploidieeffekt begründeten besseren Wüchsigkeit der tetraploiden Akzessionen liegen, die auch zu einem größeren Wurzelwachstum und damit zu einer Erschließung eines größeren Bodenvolumens geführt haben könnte. Zu bedenken ist dabei jedoch, dass es sich bei der tetraploiden Materialgruppe ausschließlich um bereits züchterisch bearbeitetes Material handelte, das auf Ertrag selektiert wurde, während in der diploiden Materialgruppe auch Akzessionen von unselektierten Wildsammlungen enthalten waren. Die Aufklärung des Einflusses der Ploidiestufe auf die Ausprägung von Trockentoleranz bedarf daher noch weiterer Untersuchungen. Ein signifikanter Einfluss des Blühzeitpunktes auf die Ausprägung von Trockentoleranz und Massenbildung zu Schnittermin 4 konnte hingegen nicht nachgewiesen werden (Abbildung 1B).

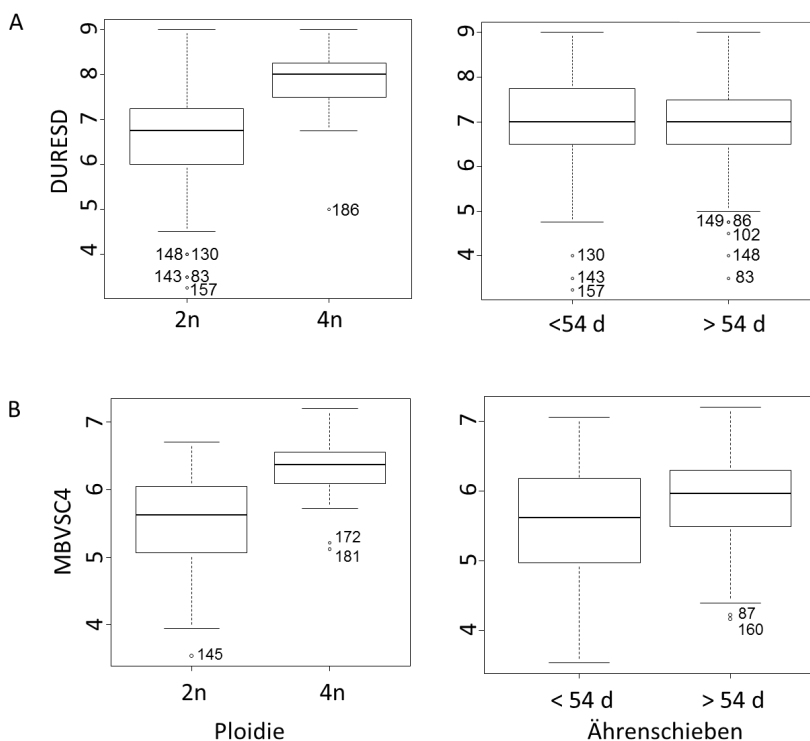


Abbildung 1: Visuelle Trockenstressbonitur am Standort Les Rosiers sur Loire (Wiederholbarkeit 57,9%) in den Materialgruppen diploid und tetraploid, sowie im früh bzw. spätblühenden Sortiment (A); visuelle Massenbildungsbonitur nach Schnittermin 4 in der zweiortigen Verrechnung der Standorte Kaltenhof und Triesdorf (Heritabilität 54,6%) in den Materialgruppen diploid und tetraploid, sowie im früh bzw. spätblühenden Sortiment (B).

Figure 1: Visual scoring of drought response at location Les Rosiers sur Loire (repeatability 57.9%) in the diploid and tetraploid material and in early and late flowering material (A); visual biomass growth after cutting date 4 in a two-location analysis (Kaltenhof and Triesdorf; heritability 54.6%) in the diploid and tetraploid material and in early and late flowering material (B).

In Arbeitspaket 3 konnten durch das besondere Versuchsdesign mit definierten Kleinparzellen à 20 Einzelpflanzen sowohl Bewertungen auf der Basis der Parzelle, als auch auf Einzelpflanzenbasis erfolgen. Durch die Verklonung der Einzelpflanzen konnten für die beiden *rain-out shelter* Standorte eine größtmögliche Vergleichbarkeit der Daten in beiden Betrachtungen erreicht werden. Tabelle 2 gibt einen Überblick über einen Teil der erfolgten visuellen

Tabelle 2: Wiederholbarkeiten (rep) und Signifikanz der genotypischen Varianzkomponente (σ^2_G) der Einzelstandorte und Heritabilitäten (h^2) und Signifikanz der genotypischen Varianzkomponente in der zweiortigen Verrechnung (Arbeitspaket 3, Vegetationsperiode 2013)

Table 2: Repeatabilities (rep) and significance of the genotypic variance component (σ^2_G) and heritabilities (h^2) and significance of the genotypic variance in the analysis across two locations (work package 3, growing season 2013)

Merkmal ¹	Pulling		Kaltenhof		2 Orte	
	rep	σ^2_G	rep	σ^2_G	h^2 (%)	σ^2_G
MBVSC1	55,82	**	54,34	**	86,09	**2
MBVSC2	67,20	**	61,84	**	85,47	**
MBVSC3	71,56	**	66,47	**	89,19	**
MBVSC4	77,17	**	73,49	**	90,82	**
MBVSC5	73,78	**	71,51	**	92,95	**
MBVSC6	63,25	**	59,09	**	92,06	**
AZ1	12,80	-	7,93	-	87,93	**
AZ2	19,20	+	14,38	-	59,03	**
AZ3	43,33	**	38,49	**	64,10	**
AZ4	54,31	**	49,68	**	78,95	**
AZ5	61,64	**	57,55	**	84,16	**
AZ6	66,57	**	62,65	**	87,32	**
CUT1	60,28	**	62,96	**	89,24	**
CUT3	46,44	**	62,31	**	86,86	**
CUT5	82,65	**	66,98	**	80,46	**
CUT6	80,96	**	67,75	**	90,32	**
DURESD1	2,99	-	7,21	-	72,06	**
DURESD2	55,51	**	56,71	**	52,84	**

¹ MBVSC, Massenbildung vor dem jeweiligen Schnittermin; AZ, Anzahl lebender Pflanzen; CUT, Biomassertrag beim jeweiligen Schnittermin; DURESD, visuelle Trockenstressbonitur

² **, $p < 0,01$; +, $p < 0,10$

Bonituren und zusätzlich zu den erfolgten Ertragsbestimmungen. Die im Frühjahr geplante Trockenstressphase zeigte aufgrund von starkniederschlagsbedingten Schwierigkeiten an beiden Standorten sehr niedrige Wiederholbarkeiten und konnte nicht für eine Selektion herangezogen werden.

Akzessionen mit guter Trockentoleranz identifiziert werden. Viele davon entstammten der tetraploiden Materialgruppe, jedoch waren auch einige diploide Vertreter darunter. Auf Basis der Einzelpflanzenbonituren konnten zudem Einzelklone mit divergierender Trockenstressantwort selektiert

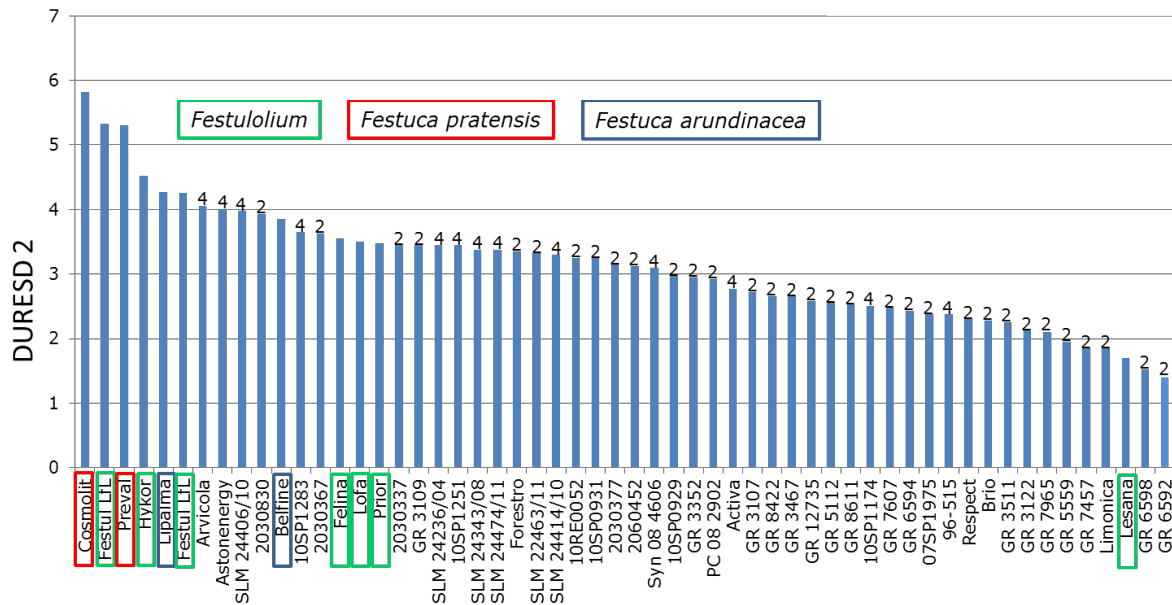


Abbildung 2: Ergebnisse der visuellen Trockenstressbonitur im Sommer. Adjustierte Mittelwerte über zwei rain-out shelter Standorte im Jahr 2013. Die Zahlen über den Balken geben die Ploidiestufe der einzelnen Akzessionen an.

Figure 2: Results of visual drought response scoring in summer. Adjusted means calculated for two rain-out shelter locations in 2013. The figures above the bars show the ploidy level of each accession.

werden. Ein Beispiel für jeweils zwei trockenolerante bzw. trockenanfällige Klone aus der gleichen Akzession ist anhand der visuellen Massenbildungsbonituren in der Vegetationsperiode 2013 in *Abbildung 3* dargestellt. Während die anfälligen Klone bereits auf die wenig ausgeprägte erste Trockenstressphase mit einem starken Abfall in der Massenbildung reagierten und sich von diesem Rückgang auch nicht mehr erholten, reagierten die als tolerant eingestuften Klone auf die erste Trockenstressphase nicht nennenswert und auf die zweite Phase mit einem mäßigen Rückgang der Massenbildung, von dem sie sich aber rasch wieder erholen konnten. Das auf diese Weise selektierte Material soll dazu verwendet werden, für das Merkmal Trockentoleranz spaltende Populationen aufzubauen, die als Ressource in genetischen Untersuchungen zur Trockentoleranz eingesetzt werden sollen.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass im untersuchten Pflanzenmaterial eine große genetische Variation für Trockentoleranz vorgefunden wurde, die sowohl innerhalb von Akzessionen als auch zwischen Akzessionen vorhanden war. Die visuelle Bonitur der Massenbildung konnte als schnell zu erfassendes, geeignetes sekundäres Selektionsmerkmal für den Vergleich über Versuchsstandorte hinweg identifiziert werden. Die visuelle Bonitur der Trockenstressantwort lieferte hingegen nur bei starken Stressbedingungen wiederholbare Werte. Durch die hohen Korrelationen der visuellen Massenbildungsbonitur mit den gemessenen Erträgen war es möglich, in Kombination mit der visuellen Trockentoleranzbonitur Genotypen zu selektieren, die einerseits eine gute Trockentoleranz zeigen und gleichzeitig ein hohes Ertragsniveau aufweisen und die auf diese Weise direkt in aktuelle Zuchtprogramme einfließen können. Die tetraploiden Akzessionen des Sortiments zeigten nach Trockenstress eine signifikant höhere Massenbildung als die diploiden Akzessionen. Sowohl die Massenbildung als auch die Trockenstressantwort zeigten sich unabhängig vom Blühzeitpunkt der Akzessionen, so dass es möglich erscheint, in allen Blühzeitpunktgruppen trockenolerante Genotypen zu selektieren. Auf der Basis der erhobenen Daten konnten Einzelklone mit divergierender Trockenstressantwort selektiert werden.

Danksagung

Die Studie wurde gefördert im Rahmen des Innovationsförderprogramms des Deutschen Bundesministeriums für Ernährung, Landwirtschaft und Verbraucherschutz (BMELV) FKZ: 28-1-45.029-10.

Literatur

IPCC, 2013: Climate change 2013: The physical science basis. Contribution of working group I to the fifth assessment report of the

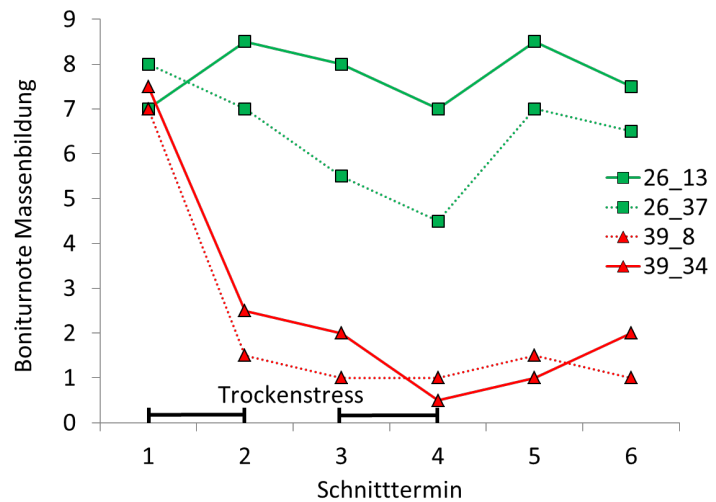


Abbildung 3: Beispiele für die Selektion trockenoleranter und anfälliger Klone (basierend auf adjustierten Mittelwerten aus zwei *rain-out shelter* Standorten 2013)

Figure 3: Examples for the selection of drought tolerant and drought susceptible clones (based on adjusted means of two *rain-out shelter* locations in 2013)

Intergovernmental Panel on Climate Change. STOCKER TF, QIN D, PLATTNER GK, TIGNOR M, ALLEN SK, BOSCHUNG J, NAUELS A, XIA Y, BEX Y, MIDGLEY PM (Eds). Cambridge University Press, Cambridge, UK. [<http://www.ipcc.ch/report/ar5/wg1/>; accessed 12 Dec 2014].

KLIWA, 2005: Der Klimawandel in Bayern für den Zeitraum 2021-2050. Kurzbericht des Projektverbundes Klimaveränderung und Wasserwirtschaft. Kooperationsvorhaben Klimaveränderung und Konsequenzen für die Wasserwirtschaft (KLIWA), Bayerisches Landesamt für Wasserwirtschaft, München. [<http://www.kliwa.de/download/kliwazukunftsbeyby.pdf>; accessed 3 Dec 2014].

LOBELL DB, GOURDJII SM, 2012: The influence of climate change on global crop productivity. *Plant Physiol* 160, 1686-1697. DOI: 10.1104/pp.112.208298.

HOV Ø, CUBASCH U, FISCHER E, HÖPPE P, IVERSEN T, KVAMSTØ NG, KUNDZEWICZ ZW, REZACOVA D, RIOS D, DUARTE SANTOS F, SCHÄDLER B, VEISZ O, ZEREFOS C, BENESTAD R, MURLIS J, DONAT M, LECKEBUSCH GC, ULBRICH U, 2013: Extreme weather events in Europe: preparing for climate change adaptation. Norwegian Meteorological Institute, The Norwegian Academy of Science and Letters, Oslo, Norway. [http://www.easac.eu/fileadmin/PDF_s/reports_statements/Extreme_Weather/Extreme_Weather_full_version_EASAC-EWWG_final_low_resolution_Oct_2013f.pdf; accessed 3 Dec 2014].

R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2013: R: A language and environment of statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna [<http://www.R-project.org>].

UTZ HF, 2005: PLABSTAT - Ein Computerprogramm zur statistischen Analyse von pflanzenzüchterischen Experimenten. Version 3A. Institut für Pflanzenzüchtung, Saatgutforschung und Populationsgenetik, Universität Hohenheim, Stuttgart.