

Aus dem Institut für Pflanzenbau und Grünland
Universität Hohenheim
Fachgebiet: Allgemeiner Pflanzenbau
Prof. Dr. W. Claupein

**Genotypische Variation der Überdauerungsneigung
von transgenem und konventionell gezüchtetem Raps
und Möglichkeiten der Beeinflussung durch Bodenbearbeitung
als Beitrag zur Sicherheitsforschung bei transgenen Kulturpflanzen**

Dissertation
zur Erlangung des Grades eines Doktors
der Agrarwissenschaften

vorgelegt der

der Fakultät Agrarwissenschaften

von

Sabine Gruber
aus Braunschweig

2004

Die vorliegende Arbeit wurde am 9. September 2004 von der Fakultät Agrarwissenschaften der Universität Hohenheim als "Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Agrarwissenschaften" angenommen.

Tag der mündlichen Prüfung: 20. September 2004

Dekan: Prof. Dr. S. Kleisinger

Berichterstatter, 1. Prüfer: Prof. Dr. W. Claupein

Mitberichterstatter, 2. Prüfer: Prof. Dr. M. Kruse

3. Prüfer: Prof. Dr. V. Römheld

© 2004 Sabine Gruber
Schillerstraße 14, 71394 Kernen
+49 (7151) 47443
sfgruber@aol.com

Druck:
F. & T. Müllerbader GmbH
Forststr. 18
70794 Filderstadt

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
1.1	Anbaubedeutung von transgenem und konventionell gezüchtetem Raps	2
1.2	Ausfallverluste bei Raps	4
1.3	Samenüberdauerung	5
1.4	Bodenbearbeitung	9
1.5	Durchwuchsraps	10
1.6	Gentransfer	11
1.7	Rechtliche Rahmenbedingungen	14
1.8	Zielsetzung	15
2	Einführung in die Publikationen (Kapitel 3, 4, 5 und 6)	17
3	Seed persistence of oilseed rape (<i>Brassica napus</i>): variation in transgenic and conventionally bred cultivars	21
4	Reducing oilseed rape (<i>Brassica napus</i>) volunteers by selecting genotypes with low seed persistence	33
5	Population dynamics of volunteer oilseed rape (<i>Brassica napus</i> L.) affected by tillage	43
6	Life cycle and potential gene flow of volunteer oilseed rape in different tillage systems	55
7	Gesamtdiskussion	73
7.1	Einfluss des Genotyps auf die Überdauerungsneigung	74
7.1.1	Konventionelle Rapssorten	74
7.1.2	Transgene Rapssorten	79
7.2	Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Überdauerungsneigung	82
7.2.1	Stoppelbearbeitung	84
7.2.2	Grundbodenbearbeitung	87
7.3	Weitere Einflussfaktoren auf die Überdauerungsneigung	90
7.4	Gentransfer durch Samenüberdauerung	93
7.5	Dynamik des Bodensamenvorrats von Raps	96
8	Zusammenfassung	101
9	Summary	105
10	Ausblick	109
11	Glossar	112
12	Verzeichnis der gesamten Literatur	113

1 Einleitung

Der Anbau von Raps (*Brassica napus* L. ssp. *oleifera* (Metzg.) Sinsk.) ist ein bedeutender Produktionszweig der Landwirtschaft und fester Bestandteil der Kulturlandschaft Mitteleuropas. Rapsöl, Produkte aus Rapsöl sowie Nebenprodukte der Ölgewinnung finden einen Markt auf dem Sektor für nachwachsende Rohstoffe und als Nahrungs- und Futtermittel. Aus pflanzenbaulicher Sicht lässt sich Raps gut und wirtschaftlich in Fruchtfolgen mit hohem Getreideanteil einbinden, in denen er neben Zwischenfrüchten oft die einzige Blattfrucht darstellt und zur Diversifizierung des Agrarökosystems beiträgt.

Diese Aspekte der Rapsproduktion skizzieren die vielfältige Bedeutung der Fruchtart. Die vorliegende Arbeit greift pflanzenbauliche Fragestellungen zum Rapsanbau im Kontext aktueller züchterischer Entwicklungen auf, die Bereiche der landwirtschaftlichen Praxis, der Vermarktung und des gesamten Ökosystems betreffen.

Inhalt der Arbeit ist die Untersuchung, in welchem Ausmaß Samen unterschiedlicher **Rapssorten** dazu neigen, nach Ausfallverlusten bei der Ernte im Boden zu überdauern. Parallel dazu wird gezeigt, welchen Einfluss bestimmte Verfahren der **Bodenbearbeitung** auf die Überdauerung der Samen und auf in Folgekulturen auflaufenden Durchwuchsraps nehmen. Neben pflanzenbaulichen Nachteilen gewinnt diese Thematik beim Anbau gentechnisch veränderter Sorten besondere Relevanz, da mit einem mehrjährig überdauernden Bodensamenvorrat ein bisher wenig kalkulierbares Potenzial für Auskreuzung und Gentransfer verbunden ist. Bestimmte Eigenschaften könnten auf diese Weise zu unerwünschten Auswirkungen auf das Ökosystem und zu einer Beeinträchtigung der Vermarktung von Rapsprodukten führen. Somit soll die Arbeit einen Beitrag zur **Sicherheitsforschung** beim Anbau transgener Kulturpflanzen leisten.

Um der Vielschichtigkeit der Thematik einen Rahmen zu setzen, führen die Abschnitte 1.1 bis 1.7 mit einer Literaturübersicht in die **Hintergründe** der Fragestellung ein. Auf dieser Grundlage erfolgt in Abschnitt 1.8 die Formulierung der **Zielsetzung** der vorliegenden Arbeit. Kapitel 2 führt in die inhaltlich zentralen Kapitel 3 bis 6 ein. Hier werden vier **Publikationen** vorgestellt, die sich mit einander ergänzenden Aspekten der Fragestellung beschäftigen und teilweise bereits in referierten Fachzeitschriften erschienen sind. In einer **Gesamtdiskussion** (Kapitel 7) werden die Ergebnisse aller Publikationen mit Bezug zur Zielsetzung erörtert und grundlegende Aussagen zu einzelnen Schwerpunkten herausgearbeitet und diskutiert. Die Kapitel 8 und 9 liefern eine **Zusammenfassung** beziehungsweise eine **Summary** in engli-

scher Sprache. Kapitel 10 (**Ausblick**) stellt den Bezug zu Perspektiven für die praktische Umsetzung der Ergebnisse her und verweist auf offene und weiterführende Fragen. Zentrale Begriffe und Definitionen, die in der Arbeit verwendet werden, sind im **Glossar** (Kapitel 11) zusammengestellt. Neben der in den jeweiligen Publikationen verwendeten Literatur, die in den Kapiteln 3 bis 6 separat aufgeführt ist, werden am Ende der Arbeit in einem **Verzeichnis der gesamten Literatur** alle verwendeten Literaturstellen angegeben (Kapitel 12).

1.1 Anbaubedeutung von transgenem und konventionell gezüchtetem Raps

Raps hat sich in der zweiten Hälfte des 20. Jahrhunderts zu einer wirtschaftlich und flächenmäßig bedeutenden Kulturpflanze entwickelt. Diese Entwicklung beruht in erster Linie darauf, dass es durch züchterische Überarbeitung gelungen ist, ernährungsphysiologisch wertmindernde **Inhaltsstoffe** in den Samen zu reduzieren. Dadurch wurde es möglich, Rapsöl nicht nur auf herkömmliche Weise vorwiegend energetisch oder technisch zu nutzen (CRAMER 1990), sondern auch vermehrt für Speisezwecke einzusetzen. Durch Züchtung und Anbau zunächst erucasäurearmer (0-) und schließlich zusätzlich glucosinolatärmer (00-) Sortentypen fanden sowohl Rapsöl als auch Schrot und Presskuchen verstärkt Eingang in den Lebens- und Futtermittelsektor (RAPS-FÖRDERUNGS-FONDS 1986).

Raps gewinnt darüber hinaus zunehmend als nachwachsender Rohstoff an Bedeutung und knüpft auf diese Weise an traditionelle Nutzungen an. Produkte aus Rapsöl gelten wegen ihrer guten Abbaubarkeit und gegenüber fossilen Energieträgern ausgeglicheneren CO₂-Bilanz als umweltfreundlich und ressourcenschonend. Auf dieser Grundlage hat sich für Raps ein Markt erschlossen, der die Produktion von technischen Ölen, Farben und vor allem Treibstoff („Biodiesel“) umfasst (DBV & UFOP 2003). Häufig sind für diese Zwecke Rapsöle mit besonderen Fettsäuremustern erwünscht (AUFHAMMER 1998).

Die Möglichkeit, Raps als nachwachsenden Rohstoff auf Stilllegungsflächen anzubauen, hat in Deutschland zu einer zusätzlichen Ausweitung des Anbaus geführt (Abb. 1.1).

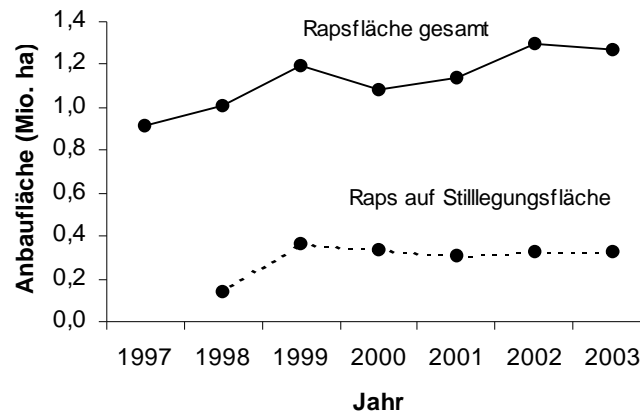


Abb. 1.1: Entwicklung der Anbauflächen von Raps in Deutschland. Nach: ZMP (2003); FNR (2004); INARO (2004)

Da Produktion und Nutzung nachwachsender Rohstoffe politische Ziele der Bundesregierung sind und durch verschiedene staatliche Programme gefördert werden (BMVEL 2003), ist zu erwarten, dass ein Anbau von Raps bei weiterhin bestehender Nachfrage auch in Zukunft Perspektiven für die Landwirtschaft bietet.

Weltweit ist Raps, unter Einbeziehung von Canola (*Canadian oil, low acid*; Sammelbegriff für bestimmte Typen von Rübsen (*Brassica rapa* L.) und Raps), in den gemäßigten Klimazonen eine der Ölpflanzen mit großer Anbaubedeutung. **Produktionsschwerpunkte** liegen in China, Indien, Kanada, Australien und Europa mit Flächen zwischen 1,5 Mio. ha (Australien) und 7,2 Mio. ha (China, FAO 2004). Deutschland und Frankreich sind mit einem Anbauumfang von jeweils über 1 Mio. ha im Jahr 2003 in der EU flächenmäßig die größten Rapsproduzenten. Im Zuge der EU-Erweiterung ergibt sich vor allem durch den Beitritt Polens und Tschechiens bezogen auf das Jahr 2003 ein Zugewinn des Anbauumfangs von ca. 0,86 Mio. ha (nach FAO 2004).

Die große Bedeutung von Raps, insbesondere in industriell entwickelten Ländern mit hohen technischen Standards und deutlicher Nachfrage nach Rapsöl und Rapsölprodukten, führt zum Einsatz innovativer produktionstechnischer und züchterischer Verfahren, die die Wirtschaftlichkeit der Produktion weiter steigern und neue Produktionsrichtungen erschließen sollen. Unter Anwendung **gentechnischer Verfahren** wurden mit dieser Zielsetzung bisher verschiedene neuartige Merkmale in Raps eingeführt. Dazu zählen in erster Linie Herbizidtoleranz für einen effektiveren Einsatz von Pflanzenschutzmitteln sowie männliche Sterilität für die Hybridzüchtung (TRANSGEN 2004). In jüngerer Zeit arbeitet man an der Synthetisierung

veränderter Fettsäuremuster mit hohen Anteilen der mittelkettigen Fettsäuren Stearin- und Laurinsäure, um die Nutzbarkeit von Rapsöl als Rohstoff in der chemischen Industrie zu erhöhen. Mit anderen Inhaltsstoffveränderungen im Rapssamen wie Sinapinarmut und der Produktion von Resveratrol sollen ernährungsphysiologische Vorteile erzielt werden. In der EU sind derzeit (mit Stand vom Oktober 2003) zwei gentechnisch veränderte Rapsorten für den Anbau zugelassen und fünf weitere beantragt, jedoch erfolgt bisher kein kommerzieller Anbau (TRANSGEN 2004). In den USA, Kanada, Japan und Australien sind bis zu 15 weitere transgene Raps- bzw. Canolasorten für den Anbau oder den Import zugelassen.

Seit Beginn des kommerziellen Anbaus im Jahr 1996 stieg der Umfang der mit transgenem Raps oder transgener Canola bestellten Flächen bis 2003 in den USA auf 400.000 ha (76 % der nationalen Rapsfläche) und auf 3,2 Mio. ha in Kanada (68 % der nationalen Rapsfläche). Weltweit nimmt transgener Raps mit einer Anbaufläche von 3,6 Mio. ha rund 16 % aller mit transgenen Kulturpflanzen bestellten Flächen bzw. rund 15 % der gesamten Rapsfläche ein (JAMES 2003).

In vielen Staaten der EU wird der Anbau gentechnisch veränderter Kulturpflanzen kritisch diskutiert. Eine deutliche Mehrheit der Verbraucher lehnt auf Befragen die Produktion oder den Verzehr von Nahrungsmitteln aus gentechnisch veränderten Pflanzen ab (GASKELL *et al.* 2003). Als Konsequenz daraus ist zum jetzigen Zeitpunkt in der EU die Anbaubedeutung von transgenen Pflanzen gegenüber Staaten wie Kanada oder den USA gering.

1.2 Ausfallverluste bei Raps

Raps ist eine relativ junge und daher nicht vollständig züchterisch bearbeitete Kulturpflanze, die noch verschiedene Wildpflanzenmerkmale aufweist (SCHRÖDER-LEMBKE 1976), zu denen eine unzureichende **Platzfestigkeit** der Schoten zählt. Deshalb werden bei der Rapsernte nicht alle Samen im Mährescher erfasst. Ein Teil davon gelangt bereits vor der Ernte unter der Einwirkung starker Niederschläge auf den Boden, und ein weiterer Teil fällt während der Ernte durch die mechanische Belastung aus. Bei der Trennung des zu mähenden Teils des Bestandes vom Rest des Feldes führen die Erschütterungen im Geflecht der ineinander verhakten Fruchtstände besonders im Bereich der Seitenschneidwerke zum Aufplatzen der Schoten. Die ausgefallenen Samen sind daher nicht gleichmäßig auf der Fläche verteilt, sondern an den Rändern der Arbeitsbreite akkumuliert (PEKRUN & CLAUPEIN 2002).

Zum Ausfallrisiko trägt bei, dass die Blüte und das Abreifen der Samen bei Raps nicht gleichmäßig über die gesamte Infloreszenz und die Triebe unterschiedlicher Insertionen ver-

läuft, so dass sich später stets nur ein Teil der gesamten Erntemenge im optimalen Reifezustand für den Drusch befindet. Das Ausfallrisiko beim in der Praxis seit Jahren üblichen Stängeldrusch liegt höher als beim Schwaddrusch, da für das Dreschen aus dem Stand die Pflanzen bis zur vollständigen Reife der Samen länger auf dem Feld stehen und die Schoten Niederschlägen stärker ausgesetzt sind (CRAMER 1990). Bereits vor der Ernte sind in Abhängigkeit von den Witterungsbedingungen und dem Reifegrad der Pflanzen Ausfallverluste reifer Samen von rund 1 % des Ertrags möglich (PAHKALA & SANKARI 2001). Natürliche Verluste und Ernteverluste können zusammen bis zu 11 % des Ertrags betragen (PRICE *et al.* 1996; GULDEN *et al.* 2003). Im Durchschnitt wird mit einem Samenausfall in der Höhe von 2 bis 3 dt ha⁻¹ bzw. 4.000 bis 6.000 Samen m⁻² gerechnet (CRAMER 1990), wobei in Einzelfällen nach heftigen Niederschlägen auch wesentlich höhere Ausfallverluste von 15.000 Samen m⁻² aufgefunden wurden (PEKRUN & CLAUPEIN 2002). Mit diesen Verlusten wird ein Vielfaches der regulären Saatmenge von ca. 3 bis 4 kg ha⁻¹ bzw. rund 100 Samen m⁻² in den Boden eingetragen. Neben dem wirtschaftlichen Verlust durch eine Verringerung des Ertrags sind mittel- und langfristig negative Folgen durch erhöhten Unkrautdruck über gekeimten Ausfallraps zu erwarten, da sich ein hohes Samenpotenzial im Boden aufbauen kann.

Obwohl gegenwärtig züchterische und verfahrenstechnische Versuchsansätze auf eine Senkung der Ausfallverluste abzielen (MORGAN *et al.* 2000; SUMMERS *et al.* 2003), bleibt im praktischen Anbau mit den derzeitigen Sorten das Risiko von Ausfallverlusten bei der Ernte bestehen.

1.3 Samenüberdauerung

Überdauerung von Samen auf dem oder im Boden ist ein verbreitetes Phänomen bei Wildpflanzen (LECK *et al.* 1989; URBANSKA 1992; BASKIN & BASKIN 1998; DEKKER 1999), das unter bestimmten Umständen auch bei verschiedenen Kulturpflanzen auftritt (LI & FOLEY 1997; GENEVE 1998; LÜTKE ENTRUP & OEHMICHEN 2000). Dadurch bildet sich aus eingetragenen Samen ein **Bodensamenvorrat**, der in Ackerböden bei Wildpflanzen mehrere tausend bis zehntausend Samen m⁻² umfassen kann (KOCH 1970; URBANSKA 1992; MAHN 2002; PEKRUN 2003).

Aus evolutionsbiologischer Sicht bietet die Überdauerungsfähigkeit mehrere **Vorteile** für die elterlichen Individuen und deren Nachkommen. Zunächst kann auf diese Weise sichergestellt werden, dass Samen nach der Abreife zu einer für ihre Spezies geeigneten Jahreszeit keimen, die möglicherweise erst einige Monate nach dem Samenfall eintritt. Darüber hinaus ist das

Vorliegen eines Bodensamenvorrats, aus dem innerhalb eines Zeitraums nur ein bestimmter Anteil Samen keimt, mit einer Risikostreuung von Verlusten durch Witterung oder Schaderreger verbunden. Schließlich ermöglichen heterogene Populationen mit Nachkommen aus unterschiedlichen Generationen, die aus dem Bodensamenvorrat auflaufen, einen Gentransfer und -austausch auf zeitlicher Ebene, der durch Neukombination von Merkmalen die Anpassungsfähigkeit und Fitness späterer Generationen erhöhen kann.

Mit der Domestizierung hat der Mensch den Kulturpflanzen diesen Selektionsdruck weitgehend genommen und trägt stattdessen durch Lagerhaltung, Bestandespflege und Pflanzenzüchtung dafür Sorge, dass das Fortbestehen geeigneter Genotypen über einen längeren Zeitraum gewährleistet ist. Zusätzlich wird im Laufe der Domestizierung eine Selektion auf hohe Keimfähigkeit erfolgt sein. Daher ist die Überdauerungsfähigkeit von Samen als typisches Wildpflanzenmerkmal bei Kulturpflanzen meistens nur schwach ausgeprägt. Raps zählt neben einigen anderen Arten zu den Kulturpflanzen, deren Samen im Boden überdauern können (SCHLINK 1998; ROLLER *et al.* 2002; LUTMAN *et al.* 2003; PEKRUN 2003).

Das Vorliegen lebensfähiger, ungekeimter Samen kann auf zwei physiologischen Zuständen beruhen: Quieszenz oder Dormanz. Bei Vorliegen von **Quieszenz** sind Samen grundsätzlich keimbereit, keimen jedoch auf Grund unzureichender Verfügbarkeit chemischer und physikalischer Faktoren wie Wasser, Sauerstoff oder bestimmter Temperaturverhältnisse nicht (BEWLEY & BLACK 1994; HILHORST & TOOROP 1997; FOLEY 2001). **Dormanz** bei Samen dagegen bezeichnet einen physiologischen Ruhezustand, in dem eine Keimung auch unter artspezifisch günstigen Bedingungen nicht stattfindet. Dormanz ist in der Regel die Voraussetzung für Samenüberdauerung, die durch verschiedene Faktoren wie Samenfraß, Befall mit Schaderregern, mangelnde Verfügbarkeit von Reservestoffen im Samen oder Alterungsprozesse Einschränkungen erfährt.

Dormanz lässt sich nach dem Zeitpunkt des Auftretens weiter klassifizieren. Während sich die Samen auf der Mutterpflanze entwickeln, unterbindet **primäre Dormanz** ein vorzeitiges Keimen im Fruchtstand (KARSEN 1980/81; URBANSKA 1992; BEWLEY 1997; HILHORST & TOOROP 1997; FOWLEY 2001). Bei Wildpflanzen bleibt primäre Dormanz häufig weit über die Reife und den Samenfall hinaus bestehen und ermöglicht auf diese Weise den Aufbau eines aus landwirtschaftlicher Sicht unerwünschten Bodensamenvorrats. Bei Kulturpflanzen ist primäre Dormanz bis zur Ernte eine unbedingt erwünschte Eigenschaft, da Ertrags- und Qualitätseinbußen vermieden werden sollen, die beim Auswuchs von Samen auf der Mutterpflanze entstehen würden. Nach der Ernte ist primäre Dormanz unerwünscht, da für ein opti-

males Wachstum des Kulturbestandes eine unverzügliche und gleichmäßige Keimung nach der Aussaat erforderlich ist.

Durch bestimmte Umweltreize kann in nicht dormanten Samen nach der Reife **sekundäre Dormanz** induziert werden (EGLEY & DUKE 1985; URBANSKA 1992; BEWLEY & BLACK 1994; HILHORST & TOOROP 1997; FOLEY 2001), die ebenso wie primäre Dormanz eine Überdauerung der Samen im Boden ermöglicht.

Ein entscheidender Faktor bei der Ausbildung von sekundärer Dormanz ist die Einwirkung von **Licht** bestimmter Wellenlänge auf Samen in gequollenem Zustand (BEWLEY & BLACK 1994; CASAL & SÁNCHEZ 1998). In einer reversiblen Reaktion bewirkt die Einstrahlung roten Lichts mit einer Wellenlänge von ca. 660 nm die Überführung einer inaktiven, Dormanz fördernden Phytochromform (Pr; r: 'red') in eine aktive, Dormanz brechende und Keimung auslösende Form (Pfr; fr: 'far red'). Die Rücktransformation von Pfr zu Pr erfolgt durch langwelliges rotes Licht mit einer Wellenlänge von ca. 730 nm. Das Verhältnis der Phytochromformen zueinander bewirkt den Reiz, der Keimung auslöst oder anderenfalls Dormanz fördert. In diesen Prozess sind als weitere Parameter die Dauer der Einstrahlung und bestimmte Temperaturverhältnisse involviert.

Für Rapssamen liegt dieses Reaktionsschema grundsätzlich ebenfalls vor. Bei niedrigem osmotischen Potenzial des umgebenden Mediums, das eine Keimung nicht ermöglicht, und bei gleichzeitigem Ausschluss von Licht entwickeln Rapssamen **Lichtsensitivität** (PEKRUN 1994; SCHLINK 1994; PEKRUN *et al.* 1997a). In diesem Zustand findet unter Ausschluss roten Lichtes (660 nm) bzw. in Dunkelheit eine Keimung auch bei später ausreichender Wasserversorgung nicht oder nur in begrenztem Umfang statt, während sie unter Lichteinwirkung in hohem Maße erfolgt. Die unter diesen Umständen im Dunkeln nicht keimenden Rapssamen gelten als sekundär dormant. Die Keimfähigkeit von Rapssamen, die nicht im Dunkeln Trockenstress ausgesetzt waren, ist dagegen bei Licht und Dunkelheit gleichermaßen hoch (PEKRUN 1994; GRUBER, unveröffentlicht). Neben Trockenstress kann eine Lichtsensitivität der Rapssamen durch suboptimale Sauerstoffversorgung in gequollenem Zustand induziert werden (PEKRUN 1994; MOMOH 2002). Die geschilderten Umweltbedingungen liegen beispielsweise vor, wenn bei der Ernte ausgefallene Rapssamen tief in relativ trockenen Boden eingearbeitet werden (PEKRUN *et al.* 1998).

Bei vielen Wildpflanzen nimmt die Umwelt bereits während der Entwicklung und Reife auf der **Mutterpflanze** in vielfältiger Weise Einfluss auf eine spätere Dormanz und Keimfähigkeit der Samen (DORNE 1981; FENNER 1991; HUME 1994; ANDERSSON & MILBERG 1998;

KEGODE & PEARCE 1998). Zu diesen Umweltfaktoren zählen in erster Linie Temperatur, Wasserversorgung und Einstrahlung von Licht.

Phytohormone sind ein weiterer Inhalt der Diskussion um die Entstehung und Kontrolle von Dormanz bei Samen (EGLEY & DUKE 1985; BEWLEY & BLACK 1994; HILHORST 1995; FOLEY 2001; KOORNNEEF *et al.* 2002; GULDEN 2003). Vor allem Abscisinsäure wird eine zentrale Rolle bei der Entwicklung von Dormanz zugeschrieben. Sowohl die jeweilige Menge des Hormons als auch die Sensitivität des Samens scheinen in das physiologische Geschehen eingebunden zu sein. Nach aktuellem Forschungsstand existiert bisher noch kein anerkanntes Modell, das die Wirkungszusammenhänge zwischen Phytohormonen und Dormanz allgemeingültig und schlüssig beschreibt.

Neben Umwelteinflüssen unterliegt Dormanz **genetischen Faktoren**. Bei Samen verschiedener Wildpflanzen wie Flughafener (*Avena fatua*), Ackerschmalwand (*Arabidopsis thaliana*) und Ackersenf (*Sinapis arvensis*) gibt es deutliche Hinweise auf genotypische Variation der Dormanz (NAYLOR & JANA 1976; GARBUTT & WITCOMBE 1986; LI & FOLEY 1997; FOLEY & FENNIMORE 1998). Auch für landwirtschaftliche Kulturpflanzen liegen Studien zur Genetik von Dormanz und Überdauerungsfähigkeit vor, darunter für Weizen und Gerste (BURAAS & SKINNES 1984; DE PAUW & MCCRAIG 1991; NYACHIRO *et al.* 2002). Daher ist es wahrscheinlich, dass die Ausbildung von Dormanz bei Raps ebenfalls eine genetische Komponente hat. In Laborexperimenten von PEKRUN *et al.* (1997b) und MOMOH *et al.* (2002) wurde bereits grundsätzlich gezeigt, dass Sortenunterschiede in der sekundären Dormanz bei Raps bestehen. Je nach Spezies sind eine unterschiedliche Anzahl beteiligter Gene und unterschiedliche Vererbungsmuster für Dormanz beschrieben worden (KHARE & SINGH 1984; ALI *et al.* 1991; LANE & LAWRENCE 1995; FOLEY & FENNIMORE 1998; FENNIMORE *et al.* 1999; FLINTHAM 2000). Offenbar existieren auf Grund der vielfältigen Ursachen und Ausprägungen von Dormanz keine allgemein verbreiteten, artübergreifenden Gene, die dieses Merkmal codieren. Zu dieser Vielfalt genetischer Faktoren trägt bei, dass ein Same in der Regel Gewebe mit unterschiedlichen Anteilen mütterlichen und väterlichen Genoms enthält. Mit diploider Samenschale (Genom Mutter), diploidem Embryo (Genom Mutter:Vater / 1:1) und triploidem Endosperm (Genom Mutter:Vater / 2:1) sind im Samen gleichzeitig Gewebe zweier Generationen vertreten, die in unterschiedlichem Maße zur Ausbildung und Aufrechterhaltung von Dormanz beitragen können (FOLEY & FENNIMORE 1998; FLINTHAM 2000). Für Ackersenf sind in diesem Zusammenhang sowohl **maternale** als auch **embryogene Komponenten** der

Dormanz beschrieben worden (GARBUIT & WITCOMBE 1986), die sich auf den Aufbau des Samens zurückführen lassen können. Für Raps lässt sich wegen des gleichen Samenaufbaus und der Verwandtschaft zu Ackersenf ein ähnlicher Hintergrund vermuten.

1.4 **Bodenbearbeitung**

Auf Ackerflächen stellt Bodenbearbeitung den traditionellen Ansatz zur **Unkrautkontrolle** dar. Durch Einsatz unterschiedlicher Bearbeitungsgeräte lassen sich unterirdische Vermehrungsorgane ausdauernder Arten, neu aufgelaufene Unkräuter und Ungräser sowie das Potenzial eingetragener Samen reduzieren. Besonders bei Arten mit kurzer Lebensdauer der Samen wirkt Bodenbearbeitung sanierend auf Ackerflächen. Tiefe, wendende Bodenbearbeitung mit dem Pflug verlagert Samen überwiegend in untere Bodenschichten (CLEMENTS *et al.* 1996; MULUGETA & STOLTENBERG 1997; RAHMAN *et al.* 2000; SWANTON *et al.* 2000; VANASSE & LEROUX 2000), aus denen viele Spezies nicht auflaufen (CHRISTIAN & BALL 1994; JAMES *et al.* 2002; PEKRUN *et al.* 2003). Nicht dormante Samen können hier durch fatale Keimung zu Grunde gehen, wenn sie ohne ausreichende Reservestoffe nach der Keimung die Bodenoberfläche nicht erreichen. Dormante Samen hingegen können in dieser ungünstigen Keimlage überdauern, um nach erneutem Pflügen und Verlagerung in die Nähe der Bodenoberfläche zu keimen und sich erfolgreich als Pflanzen zu etablieren. Die Fähigkeit zur Ausbildung sekundärer Dormanz kann somit als Anpassung von Wildpflanzen an Ackerbausysteme mit tiefer Bodenbearbeitung verstanden werden. Raps ist an diese Bedingungen ebenfalls adaptiert.

Die vertikale Verteilung von Samen im Boden ist direkt von der **Intensität der Bodenbearbeitung** und vom jeweils eingesetzten Gerät abhängig. Egge und Grubber bewegen und verteilen Samen vor allem in oberen Bodenschichten, während der Streichblechpflug größere Samenmengen in die Tiefe verlagert (COUSENS & MOSS 1990). Dadurch sind Samen den Bedingungen, die sekundäre Dormanz induzieren und erhalten, in unterschiedlicher Weise ausgesetzt (PEKRUN 2003), so dass der Umfang eines Bodensamenvorrats mittelbar auch anthropogene Ursachen hat.

Die Abhängigkeit des Umfangs eines Bodensamenvorrats von der Intensität der Bodenbearbeitung wird in verschiedenen Studien gezeigt. Eine Reduktion des Bodensamenvorrats durch intensive Bodenbearbeitung beschrieben EHLERS & CLAUPEIN (1994), CARDINA & SPARROW (1996) und VANASSE & LEROUX (2000), doch wurde auch der umgekehrte Effekt beobachtet (CLEMENTS *et al.* 1996). Generell gilt, dass mit abnehmender Intensität der Bo-

denbearbeitungssysteme der Bodensamenvorrat zunimmt. Dabei müssen kurzfristige Effekte einzelner Bodenbearbeitungsmaßnahmen und eine längerfristige Entwicklung des Bodensamenvorrats in unterschiedlichen Bodenbearbeitungssystemen berücksichtigt werden.

1.5 Durchwuchsrap

Pflanzen, die aus dem Bodensamenvorrat auflaufen, stellen in Ackerkulturen häufig unerwünschte Unkräuter dar. Dazu zählt auch Durchwuchs von Kulturpflanzen im Bestand einer anderen Fruchtart. Wegen der hohen Ausfallverluste bei der Ernte und der Überdauerungsfähigkeit der Samen kann sich bei Raps ein umfangreicher Bodensamenvorrat aufbauen, aus dem in Folgekulturen über mehrere Jahre hinweg Durchwuchsrap aufwachsen kann. Frühzeitig nach der Ernte auflaufende Rapspflanzen aus Ausfallsamen werden bei der Bodenbearbeitung für die Folgefrucht mechanisch vernichtet. Später auflaufende Pflanzen können in Getreidebeständen relativ gut chemisch kontrolliert werden, während in Beständen anderer dikotyler Pflanzen wie Zuckerrüben eine chemische **Bekämpfung** auf Grund unzureichender Selektivität der Herbizide schwierig ist. Da Rapsamen nach eigenen Beobachtungen die gesamte Vegetationsperiode über aus dem Bodensamenvorrat auflaufen, können auch in Getreidebeständen nicht sämtliche Pflanzen mit praxisüblichen Herbizidbehandlungen erfasst werden. Auf längere Sicht ließen sich Probleme bei der Unkrautkontrolle erwarten, wenn nur eine bestimmte Auswahl von Herbiziden wirksam gegen transgene, herbizidtolerante Durchwuchspflanzen eingesetzt werden könnte.

Neben der möglichen Konkurrenz mit dem Kulturbestand um Wachstumsfaktoren hat Durchwuchsrap den Nachteil, dass er als Brücke für Schaderreger fungieren kann, die auf diese Weise über eine gesamte Rotation geeignete Wirtspflanzen vorfinden und den Schaddruck aufrechterhalten können. Ein Krankheiten oder Schädlingen vorbeugender Fruchtfolgeeffekt wird auf diese Weise eingeschränkt.

Durchwuchsrap in einem Rapsbestand kann nur anhand erhöhter Bestandesdichten und bei einem Auflaufen zwischen den Reihen erkannt werden. Da eine chemische Unkrautkontrolle von Durchwuchsrap innerhalb eines Rapsbestandes nicht möglich ist, könnte allein eine mechanische Bekämpfung durch Striegeln oder Hacken (BÖRNER 1995) zwischen den Reihen erfolgen; bei Raps ist das jedoch auf Grund des Verletzungsrisikos für die Pflanzen ein unübliches Verfahren.

Bei hohem Besatz mit Durchwuchsrap liegt in einem Rapsbestand wegen der erhöhten Bestandesdichten ein größeres Risiko für Auswinterung vor, wenn sich die Pflanzen bereits vor

dem Winter durch den knappen Standraum weit entwickelt haben. Später kann die mögliche Beimischung anderer Reifetypen zu einer uneinheitlichen Abreife des Bestandes und zu Ernteproblemen führen.

Enthalten die Samen der Durchwuchspflanzen abweichende Inhaltsstoffe gegenüber den Samen des Kulturbestands, können sich **Qualitätsverluste** und Vermarktungsprobleme für das Erntegut ergeben, wie es nach der Umstellung auf 00-Sorten teilweise der Fall war. Besondere Qualitäten, zum Beispiel hohe Erucasäuregehalte für technische Zwecke, oder Eigenschaften, die mittels gentechnischer Verfahren eingeführt wurden, sind als Beimischung im Erntegut anderer Sorten meistens unerwünscht. Speziell in Zuchtgärten und bei der Produktion von Z-Saatgut ist daher der Vermeidung von Durchwuchsraps besondere Aufmerksamkeit zu schenken.

Wegen der **Kennzeichnungspflicht** von Produkten mit einer zufälligen und unbeabsichtigten Beimischung von transgenen Bestandteilen ab einem Anteil von 0,9 % könnte die Samenproduktion oder Auskreuzung transgener Durchwuchspflanzen zu wirtschaftlichen Nachteilen führen, wenn sich eine Vermarktung dieser Produkte auf Grund geringer Akzeptanz der Verbraucher als schwierig erweist.

In der Regel wird bei Sorten aus konventioneller Züchtung eine gewisse Anzahl Durchwuchspflanzen toleriert werden, solange die **wirtschaftliche Schadschwelle** nicht überschritten ist. Diese Schadschwelle könnte aus den geschilderten Gründen jedoch bei transgenem Durchwuchsraps deutlich niedriger liegen als bei konventionellem Durchwuchsraps.

1.6 Gentransfer

Eine Ausbreitung bestimmter Gene kann bei Pflanzen im weitesten Sinne über deren natürliche **Verbreitungsmechanismen** erfolgen, das heißt über Pollen, Samen oder vegetative Pflanzenteile. Der Mensch trägt gewollt oder ungewollt zur Verbreitung von Pflanzen und damit ihrer Gene und Eigenschaften bei. Dies kann zufällig durch Transportverluste entlang von Verkehrswegen oder durch Verschleppung mit landwirtschaftlichen Maschinen von einer landwirtschaftlichen Fläche auf die andere geschehen, aber auch gezielt durch den Handel mit Saatgut oder Pflanzen. Auf diese Weise sind in Europa zahlreiche Neophyten eingewandert, die sich als Wildpflanzen in der ursprünglichen, natürlichen Vegetation etabliert haben oder als landwirtschaftliche Kulturpflanzen Grundlage der Nahrungs- und Futtermittelproduktion sind.

Enger gefasst bedeutet Verbreitung von Genen oder Gentransfer eine Übertragung genetischer Information auf natürlichem Wege von Individuen auf andere Individuen, so dass deren Nachkommen diese neu eingeführten Gene ebenfalls tragen und gegebenenfalls exprimieren. Mit der **Introgression** von Fremdgenen in Wildpflanzenpopulationen können Selektionsvorteile für die Träger des Merkmals verbunden sein, die Veränderungen in der Pflanzengesellschaft verursachen. Vielfach werden im Zusammenhang mit Gentransfer und Introgression potenziell negative Auswirkungen auf Ökosysteme diskutiert, beispielsweise das Auftreten von Unkräutern mit multiplen Herbizidtoleranzen, die nur noch unzureichend chemisch kontrolliert werden könnten. Ebenso wäre die Verdrängung von in bestehende Ökosysteme eingebundenen Arten durch andere, auf Grund neuartiger Eigenschaften bevorteilte Arten nicht erwünscht. Insbesondere auf gentechnischem Weg in Pflanzen eingeführte Genkonstrukte stehen im Mittelpunkt der Diskussion.

Räumlicher Gentransfer führt zur Übertragung von Genen durch Pollentransport und Auskreuzung in gleichzeitig blühende Kulturbestände oder nah verwandte Wildpflanzen innerhalb einer räumlichen Distanz. Mit der Züchtung von gentechnisch verändertem Raps wurden mögliche **Auskreuzungsraten** ein wichtiger Aspekt der Risikobegleitforschung. Vielfach wurden die Einhaltung von Mindestabständen und der Anbau von Mantelsaaten geprüft, um Auskreuzungen und Gentransfer in konventionelle Bestände oder potenzielle Kreuzungspartner aus der Wildflora zu verhindern.

Raps ist je nach Sorte und Witterungsbedingungen mit ca. 30 % Fremdbefruchtung ein partieller Fremdbefruchter (HÜHN & RAKOW 1979; BECKER *et al.* 1992). Die Fremdbefruchtung erfolgt sowohl durch Wind- als auch Insektenbestäubung und ist abhängig von der Entfernung zur Pollenquelle, der Windrichtung, der Witterung und der Parzellengröße. Auskreuzungen oder Pollentransport wurden bis zu einer Entfernung von 2500 m festgestellt (TIMMONS *et al.* 1995; RIEGER *et al.* 2002). Ab einer Entfernung von über 100 m zur Pollenquelle beträgt die Auskreuzungsrate 0,02 bis 4 % (SCHEFFLER *et al.* 1995; DOWNEY 1999), doch auch auf kürzeren Distanzen wurden ähnliche Werte gefunden (STANILAND *et al.* 2000). Bei enger Nachbarschaft zwischen Pollenquelle und Rezeptorpflanze, wie sie zwischen benachbarten Pflanzen, Reihen oder kleinen Parzellen vorkommen, beträgt die Auskreuzungsrate zwischen 3 bis 40 % (RAKOW & WOODS 1987; HACKENBERG & KÖHLER 1996; FÖRSTER *et al.* 1998; CUTHBERT & MCVETTY 2001). Eine unerwünschte Auskreuzung von Rapsbeständen oder einzelnen Durchwuchsrapspflanzen in benachbarte Rapspflanzen und -bestände oder in Wildpflanzen ist daher auf Grund der Blühbiologie möglich.

In der mitteleuropäischen Flora existieren verschiedene Wildpflanzen, die auf Grund enger Verwandtschaft zu Raps und einer räumlichen Nähe der Habitats potenzielle **Kreuzungspartner** darstellen. Erfolgreiche Hybridisierungen ließen sich für Rübsen (*Brassica campestris* bzw. *B. rapa*), Hederich (*Raphanus raphanistrum*), Grausenf (*Hirschfeldia incana*), Sareptasenf (*B. juncea*) und Schwarzen Senf (*B. nigra*) nachweisen (JØRGENSEN & ANDERSEN 1994; BING *et al.* 1996; CHÈVRE *et al.* 1996; JØRGENSEN *et al.* 1996; LANDBO & JØRGENSEN 1997; DARMENCY *et al.* 1998; SAURE *et al.* 1999; CHÈVRE *et al.* 2000). Als amphidiploider Bastard produziert Raps mit diploiden Wildpflanzen triploide Hybriden, deren Fertilität auch bei Rückkreuzungen wegen der Inkompatibilität der Chromosomensätze beider Kreuzungspartner meistens stark eingeschränkt ist. Kreuzungsnachkommen wurden häufig nur unter kontrollierten Bedingungen im Labor und Gewächshaus, und seltener unter Praxisbedingungen erzeugt (KERLAN *et al.* 1992; BARANGER *et al.* 1995; LEFOL *et al.* 1996a, b; SAURE *et al.* 1999; HANSEN *et al.* 2001; PERTL *et al.* 2002). In den meisten Fällen wiesen die entstandenen interspezifischen Hybriden eine deutlich geringere Fitness gegenüber den elterlichen Spezies auf. Vergleichsweise erfolgreich hybridisierte Raps mit Rübsen (HAUSER *et al.* 1998).

Durch die Überdauerung von Samen im Boden oder durch die Etablierung einer sich reproduzierenden Wildpopulation kann bei Raps auch ein **zeitlicher Gentransfer** erfolgen. Auskreuzungen sind über mehrere Jahre und lange nach dem kommerziellen Anbau der Pflanzen möglich, wenn transgene Samen oder Populationen überdauern. Zwei Szenarien sind für den zeitlichen Gentransfer vorstellbar: eine Etablierung von wilden Rapspopulationen auf Ruderalflächen und eine Etablierung auf landwirtschaftlich genutzten Flächen. Das Vorkommen verwilderter Rapspflanzen auf **Ruderalflächen**, zum Beispiel an Straßenrändern, ist häufig zu beobachten (CRAWLEY & BROWN 1995; PESSER *et al.* 2001). Wenn aufgefundene Typen seit mehreren Jahren nicht mehr im Anbau waren, bleibt offen, ob es sich hierbei um sich selbst reproduzierende Populationen handelt, ob Pflanzen noch nach Jahren aus einem vorhandenen Bodensamenvorrat aufwachsen, oder ob von außen ein steter Neueintrag von Samen erfolgt. Durch Auskreuzung von Ruderalraps könnte ein Gentransfer auf Wildpflanzen und Kulturrapss erfolgen. Auf **landwirtschaftlich genutzten Flächen** ist immer wieder Durchwuchsraps aufzufinden, der aus überdauernden Samen aufläuft. Dieser Bodensamenvorrat kann im ersten Jahr nach der Ernte mehr als 3.000 Samen m⁻² umfassen (ROLLER *et al.* 2002). Mit experimentell belegten Überdauerungszeiten von 10 Jahren bei Rapssamen aus konventioneller Züchtung (SCHLINK 1998; LUTMAN *et al.* 2003) ist grundsätzlich ein hohes Potenzial für einen

zeitlichen Gentransfer vorhanden. Auch auf Praxisflächen ist eine mehrjährige Samenüberdauerung sowohl für konventionell gezüchteten als auch transgenen Raps belegt (ROLLER *et al.* 2002; LÉGÈRE *et al.* 2001; SIMARD *et al.* 2002). Durchwuchsraps, der aus diesem Samen-vorrat im Verlauf mehrerer Jahre heranwächst, könnte mit anderen Rapspflanzen oder verwandten Wildarten auskreuzen und Gentransfer über einen unbestimmten Zeitraum in der Zukunft verursachen.

1.7 Rechtliche Rahmenbedingungen

Die vorgestellten Arbeiten fielen in eine Phase, in der im europäischen und deutschen Gentechnikrecht entscheidende Änderungen geplant oder neue **Rechtsvorschriften** bereits in der Umsetzung begriffen waren. Hiervon sind Regelungen betroffen, die sowohl die Freisetzung und das Inverkehrbringen als auch die Kennzeichnung gentechnisch veränderter Organismen (GVO) und daraus produzierter Lebens- und Futtermittel zum Inhalt haben (Tabelle 1.1).

Tabelle 1.1: Gesetzliche Regelungen zur Gentechnik auf EU-Ebene (EU) und in Deutschland (D)

		Bisherige Regelungen:		
EU	RL 90/220/EWG vom 23.04.1990 'Freisetzungsrichtlinie'	VO (EG)Nr. 258/97 vom 27.01.1997 'Novel-Food-Verordnung'		

D	Gentechnikgesetz – GenTG (16.12.1993)	unmittelbar gültig		
Regelt:	Freisetzung und Inverkehrbringen von GVO	Kennzeichnung		
		Novellen:		
EU	RL 2001/18/EG vom 12.03.2001	VO (EG) Nr. 1829/2003 vom 18.10.2003	VO (EG) Nr. 1830 vom 18.10.2003	

D	noch nicht umgesetzt	unmittelbar gültig ab 18.4.2004	unmittelbar gültig ab 18.4.2004	
Regelt:	Freisetzung und Inverkehrbringen von GVO, Koexistenz, Monitoring	gentechnisch veränderte Lebens- und Futtermittel, Schwellenwert	Rückverfolgbarkeit und Kennzeichnung, Schwellenwert	

Die Freisetzungsrichtlinie der EU regelt die Freisetzung gentechnisch veränderter Organismen in die Umwelt sowie das Inverkehrbringen von GVO als Produkte oder in Produkten, und wird in Deutschland durch das Gentechnikgesetz umgesetzt, dessen Novellierung bevorsteht. Eine Novellierung der Novel-Food-Verordnung, die das Inverkehrbringen und die

Kennzeichnung neuartiger Lebensmittel regelte, erfolgte in jüngster Zeit mit zwei EU-Verordnungen zur Kennzeichnung und Rückverfolgbarkeit.

Besonders strittig war die Festlegung eines **Schwellenwertes**, ab dem eine Kennzeichnung unabsichtlich beigemischter transgener Bestandteile in konventionellen Erzeugnissen erfolgen muss („Schwellenwertdiskussion“). Auf Grund der unsicheren Rechtslage und der nicht absehbaren juristischen Tragweite von möglichen Auskreuzungen gentechnisch veränderter Pflanzen während der Phase der Entscheidungsfindung war 1998 in der EU ein Moratorium vereinbart worden, das die weitere Zulassung von gentechnisch veränderten Organismen bis zum Frühjahr 2004 ausschloss. Mit der Novellierung entscheidender Rechtsnormen auf EU-Ebene wurde eine verbindliche Grundlage für den Anbau und die Vermarktung transgener Kulturpflanzen geschaffen. Die Freisetzung transgener Kulturpflanzen ist derzeit in Deutschland de facto weiterhin eingeschränkt, solange die Umsetzung der novellierten EU-Freisetzungsrichtlinie in ein neues, nationales Gentechnikgesetz noch nicht erfolgt ist und der Entwurf in seiner aktuellen Form Unsicherheiten für Produzenten von transgenen Pflanzen beinhaltet.

Zum Zeitpunkt der Durchführung der im Folgenden vorgestellten Versuche war entgegen der ursprünglichen Planung kein Saatgut zur Freisetzung von transgenem Raps für die Etablierung blühender Bestände erhältlich, da die Züchter auf Grund der geschilderten Rahmenbedingungen mögliche Rechtsansprüche Dritter auf Schadensersatz ausschließen wollten. Eine Freisetzung nur von Samen und ohne das Ziel zu verfolgen, einen Bestand zu etablieren, konnte jedoch durchgeführt werden.

1.8 Zielsetzung

Auf Grund der Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen, die als Verluste bei der Ernte in den Boden gelangen, kann in den nachfolgenden Kulturen Durchwuchsraps auflaufen. Neben pflanzenbaulichen Problemen ist über Durchwuchsraps ein Gentransfer möglich, der besonders unerwünscht sein kann, wenn damit eine Beimischung transgener Bestandteile in das Erntegut konventioneller Rapssorten verbunden ist.

Ziel der Arbeit ist, mögliche genotypische Unterschiede bei der Ausbildung sekundärer Dormanz und der daraus resultierenden Überdauerungsneigung von Rapssamen zu untersuchen und aufzuzeigen. Parallel dazu soll der Einfluss einer gezielten Bodenbearbeitung auf die Überdauerung von Rapssamen geprüft werden. Beide Ansätze sollen ermöglichen, Aussagen zum potenziellen Umfang und zu Kontrollmöglichkeiten von Gentransfer über den Boden-

samenvorrat und daraus auflaufendem Durchwuchsrap zu treffen, um einen Beitrag zur Sicherheitsbewertung von transgenem Raps zu leisten.

Dazu wurde folgenden Fragen nachgegangen:

- Wie hoch ist die Überdauerungsneigung in verschiedenen gentechnisch veränderten und konventionell gezüchteten Rapssorten?
- Welchen Einfluss hat Bodenbearbeitung auf die Überdauerung von Rapssamen und das Auftreten von Durchwuchsrap?
- Unter welchen Umständen kann Durchwuchsrap im Laufe des Lebenszyklus zu Gentransfer führen?

2 Einführung in die Publikationen (Kapitel 3, 4, 5 und 6)

Die vorliegende Arbeit basiert auf vier Publikationen, die in den folgenden Kapiteln 3 bis 6 wiedergegeben sind.

Kapitel 3 mit dem Titel **‘Seed persistence of oilseed rape (*Brassica napus*): variation in transgenic and conventionally bred cultivars’** beinhaltet die Ergebnisse von Laborversuchen sowie Versuchen mit im Boden vergrabenen Rapssamen konventioneller und transgener Sorten aus jeweils zwei Versuchsjahren. Ziel der Untersuchungen war, eine potenzielle genotypische Variation der Überdauerungsneigung innerhalb einer größeren Anzahl von Rapssorten zu erkennen und zu quantifizieren. Im Labor erfolgte modellhaft die Identifizierung hoch oder gering überdauerungsfähiger Typen über die künstliche Induktion sekundärer Dormanz unter kontrollierten Bedingungen. Im Vergrabungsversuch wurden parallel dazu Samen derselben Sorten für ein halbes Jahr im Boden vergraben, um auf diese Weise unter praxisnahen Umweltbedingungen die Fähigkeit zur Überdauerung zu prüfen. Der Vergleich beider Versuchsansätze miteinander sollte die Eignung der Laborversuche beurteilen, die Umweltbedingungen im Feld dergestalt hinreichend abzubilden, dass ein Screening auf Überdauerungsneigung im Labor in Zukunft möglich ist.

Der Artikel ist 2004 im *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* **142**, 29–40, Cambridge University Press (UK), erschienen.

Kapitel 4 mit dem Titel **‘Reducing oilseed rape (*Brassica napus*) volunteers by selecting genotypes with low seed persistence’** trifft mit Ergebnissen aus einem Feldversuch Aussagen über genotypische Unterschiede der Überdauerungsneigung unter Praxisbedingungen. Wegen der für Feldversuche erforderlichen, großen Flächenkapazitäten wurde das verfügbare Sortiment auf vier ausgewählte Prüfsorten beschränkt, unter denen sich zwei nah-isogene Sorten befanden. Ein feldmäßiger Anbau der transgenen Pendanten war auf Grund der damaligen Unsicherheiten im Zusammenhang mit der ‚Schwellenwertdiskussion‘ nicht möglich. Ergebnisse aus Laborversuchen zur sekundären Dormanz dieser Sorten und zur Überdauerungsneigung unter Feldbedingungen wurden miteinander verglichen, um daraus Konsequenzen für die mögliche Etablierung von Durchwuchsrapspflanzen und potenziellen Gentransfer abzuleiten. Die Prüfung im Feld erfolgte mit bei der Rapsernte ausgefallenen Samen bei einheitlicher Bodenbearbeitung, die aus unverzüglicher Stoppelbearbeitung nach der Ernte und späterer Grundbodenbearbeitung mit dem Streichblechpflug bestand. Diese Bearbeitungs-

maßnahmen hatten sich in vorangegangenen Studien als geeignet erwiesen, einen großen Bodensamenvorrat aufzubauen, und wurden gewählt, um auch bei graduellen Sortenunterschieden eine hinlängliche Trennschärfe zu erzielen. Mit der Publikation wird ein Bogen von den Ergebnissen zu sekundärer Dormanz aus Laborversuchen bis zu Aussagen zur Überdauerung und zum potenziellen Gentransfer im Freiland gespannt.

Der Artikel ist 2004 im *Journal of Plant Diseases and Protection*, Special Issue **XIX**, 151–159, Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart (D), erschienen.

Kapitel 5 mit dem Titel **‘Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage’** beschreibt die Ergebnisse des ersten Versuchsjahres eines Feldversuchs zur Prüfung des Einflusses von Bodenbearbeitung auf die Überdauerungsneigung von Rapssamen. Ziel der Untersuchung war es, den Verbleib einer definierten, gezielt ausgestreuten und räumlich einheitlich verteilten Menge von Rapssamen in vier Varianten unterschiedlich intensiver Bodenbearbeitung über ein gesamtes Jahr zu verfolgen. Schwerpunkte bildeten der Verbleib der Samen und die Anzahl blühender und fruchtender Durchwuchsrapspflanzen in der Folgekultur Winterweizen. Um einen Vergleich mit transgenen Sorten zu ermöglichen, deren Anbau wegen der ‚Schwellenwertdiskussion‘ nicht erfolgen konnte, wurden für den Versuch zwei konventionelle, nah-isogene Sorten verwendet. Die Ergebnisse liefern Hinweise auf die Eignung unterschiedlicher Bodenbearbeitungsmaßnahmen zur Reduzierung von Durchwuchsrap und von Gentransfer.

Der Artikel ist 2004 im *European Journal of Agronomy* **20**, 351–361, Elsevier, Amsterdam (NL), erschienen.

Kapitel 6 mit dem Titel **‘Life cycle and potential gene flow of volunteer oilseed rape in different tillage systems’** stellt die Ergebnisse des zweiten Versuchsjahres des unter Kapitel 5 beschriebenen Feldversuchs zur Prüfung des Einflusses der Bodenbearbeitung auf die Samenüberdauerung, die Entwicklung von Durchwuchsrap und möglichen Gentransfer vor. Der Sameneintrag erfolgte durch ein gezieltes Ausstreuen von Rapssamen zweier nah-isogener Sorten auf den Boden. Die in Feldversuchen häufig variierenden und nicht reproduzierbaren Umweltbedingungen machen für allgemein gültige und langfristige Aussagen die Erhebung von Daten aus mehreren Versuchsjahren sinnvoll. Ergänzend wird ein zweiter Versuchsansatz im Feld beschrieben, bei dem unter derselben Versuchsfrage Samen einer nah-isogenen Sorte geprüft wurden, die bei der Rapsernte tatsächlich ausgefallen waren. Gegenüber künstlichen Ausfallverlusten von Samen im ersten Versuchsansatz war beim Arbeiten

mit Praxis-Ausfallverlusten von einem ungleichmäßig verteilten und insgesamt geringeren Sameneintrag zu Versuchsbeginn auszugehen. Weitere Unterschiede waren eine Auflage von Rapsstroh nach dem Drusch, die einen Einfluss auf die Überdauerung und die Keimung von Ausfallraps haben könnte, sowie potenzielle biotische und abiotische Faktoren im Boden, die unter Rapsbeständen in der Praxis vorkommen und die Überdauerungsfähigkeit beeinflussen könnten. Die Ergebnisse ergänzen Interpretationen der Eignung unterschiedlicher Bodenbearbeitungsmaßnahmen zur Reduzierung von Durchwuchsraps und Gentransfer aus dem vorjährigen Versuch (Kapitel 5) und liefern detaillierte Daten als Grundlage für künftige Modellrechnungen.

Der Artikel wurde im Juni 2004 bei *Weed Research*, Blackwell Publishing, Oxford (UK), angenommen und befindet sich im Druck.

3 Seed persistence of oilseed rape (*Brassica napus*): variation in transgenic and conventionally bred cultivars

Journal of Agricultural Science (2004), **142**, 29–40. © 2004 Cambridge University Press
DOI: 10.1017/S0021859604003892 Printed in the United Kingdom

29

Seed persistence of oilseed rape (*Brassica napus*): variation in transgenic and conventionally bred cultivars

S. GRUBER*, C. PEKRUN AND W. CLAUPEIN

Institute for Crop Production and Grassland Research, University of Hohenheim, 70599 Stuttgart, Germany

(Revised MS received 2 February 2004)

SUMMARY

Seeds of oilseed rape (*Brassica napus* L.) can persist in the soil over several years by becoming secondarily dormant and can then germinate to create volunteer plants in following crops. As well as agricultural impacts caused by volunteers, gene dispersal in time – particularly from genetically modified cultivars – can be another undesirable consequence. Conventionally bred and transgenic seeds were tested in 2001 and 2002 in laboratory experiments, and in a field experiment, by burying seeds in the soil to determine the variation in dormancy and persistence capacity.

In the conventional group of cultivars tested in the laboratory, the level of dormancy was 13–76% in 2001, and 3–76% with an extended group in 2002. The transgenic group of cultivars was 1–31% dormant. In the burial experiments the number of viable seeds recovered in the conventionally bred cultivars ranged from 34–90% in 2001, and 7–68% in 2002. In the same studies the transgenic cultivars developed persistence levels from 12–79% in 2001, and 46–67% in 2002. Since dormancy levels of conventionally bred cultivars from 2 harvest years in the laboratory tests correlated significantly ($r=0.71$), it appears that there is a genetic background to secondary dormancy. There was also a significant correlation ($r=0.61$ in 2001 and 0.80 in 2002) between the results from laboratory and burial experiments. This indicates that the laboratory approach can simulate the situation in the field. Ageing over 6 months decreased the capacity for seed persistence to about a fifth of the level shown when freshly harvested. As a consequence of ageing and environmental impacts on persistence, only seeds from the same location and harvest year should be used for testing genetic variability. The high genetic variability among currently available rape seed cultivars gives breeding strategies a good chance of ideotyping low persistence genotypes and minimizing the risk of gene dispersal in time.

INTRODUCTION

In the context of the public and scientific discussion about the release of genetically modified (GM) crops, including oilseed rape (*Brassica napus* L.), gene dispersal is one of the most important topics of risk assessment. As well as the spatial dispersal that can occur by pollen transmission and seed dispersal by machines to neighbouring sites, gene dispersal in time may also be possible on a single site through the persistence of volunteer rape. It is vital to make sure that harvested crops do not contain more than the permitted levels of seeds with attributes from other

genotypes. This is particularly relevant to mixtures of conventionally bred crops with GM crops where minimum thresholds have been set for GM presences in food and feed. According to the amendment of the Novel Food Regulation (Regulation (EC) 258/97) a level of GM material in food or feed of $>0.9\%$ requires labelling for adventitious or technically unavoidable presence of genetically modified material. As there is comparatively low acceptance of GM food among EU consumers (Gaskell *et al.* 2003), food producers and retailers will probably try to keep the GM contents in food below this level. Furthermore, oilseed rape volunteers are also an agronomic problem for farmers since volunteer rape can act as a bridge for pests and diseases between two growing seasons. Especially in close rotations, volunteer plants cannot

* To whom all correspondence should be addressed.
Email: grubersf@uni-hohenheim.de

easily be controlled by herbicides or tillage operations. Therefore, these volunteers can increase the plant density of rape crops and harvest problems may be caused by different dates of maturation.

Since the number of seed losses during ripening and harvest can reach 11% of overall crop yield (Price *et al.* 1996), or 10 000 seeds/m² (Lutman 1993) depending on the ripening and harvest conditions, it is possible that a considerable soil seed bank can be established. Under experimental conditions, seeds have been shown to be able to survive ungerminated in the soil for up to 10 years (Schlink 1998). Depending on the particular cultivation and annual weather conditions, the rape seed bank under field conditions has been shown to contain from 600 seeds/m² (Gruber *et al.* 2002*b*), through 1200 seeds/m² (Pekrun *et al.* 1998*a*) to 3200 seeds/m² (Roller *et al.* 2002) in the first year following a rape crop. Even 2 years after growing oilseed rape about 1000 seeds/m² were found (Roller *et al.* 2002). This mainly happens as a result of seeds becoming secondarily dormant when exposed to particular environmental conditions as reviewed by Karssen (1980/81), Vleeshouwers *et al.* (1995), Pekrun *et al.* (1998*b*) and Benech-Arnold *et al.* (2000). Primary dormancy, preventing ripening seeds from germinating on the mother plant, is virtually absent in oilseed rape in fully ripened seeds (Schlink 1993).

One of the most important factors in the development of secondary dormancy in rape seeds is the high osmotic pressure of the surrounding medium as occurs in soil during the summer months after harvesting rape crops (Pekrun 1994; Pekrun *et al.* 1997*b*; Momoh *et al.* 2002). Water deficiency seems to impose light sensitivity in rape seeds (Pekrun 1994; Pekrun *et al.* 1998*b*) that initiates germination when seeds are exposed to red light, and keeps seeds dormant under far-red conditions (Bewley & Black 1994). Therefore, another important component is the exclusion of light as occurs in deeper soil layers under natural conditions (Pekrun 1994; Schlink 1994). As described by Bewley & Black (1994), Amritphale *et al.* (1995), López-Granados & Lutman (1998) and Casal & Sánchez (1998), the seed's phytochrome system and its interactions with different light qualities is a factor in the onset of secondary dormancy and control of seed germination. Furthermore, soil oxygen concentration (Pekrun *et al.* 1997*b*; Momoh *et al.* 2002) and temperature (Pekrun 1994; Squire 1999) are also involved in dormancy induction.

Numerous studies have explored soil cultivation techniques to avoid or solve problems arising from the soil seed bank and the subsequently emerging rape volunteers (Mohler & Calloway 1992; Bowerman 1993; Dyer 1995; Pekrun 1998*c*; Pekrun & Claupein 1999; Gruber *et al.* 2002*b*, 2004).

An alternative approach is to select and ideotype genotypes that do not, or only have a small potential

to, develop the attribute 'secondary dormancy' and consequent seed persistence in soil. Differences in seed persistence of oilseed rape genotypes have been documented for comparisons of a few single cultivars at a time (Pekrun 1994; Booth *et al.* 1996; Hails *et al.* 1997; López-Granados & Lutman 1998; Pekrun *et al.* 1998*a*; Roller *et al.* 2002) and for more extensive ranges of English, Chinese and Swedish cultivars in laboratory experiments (Pekrun *et al.* 1997*a*; Momoh *et al.* 2002). Finally, a small range of transgenic/near isogenic lines has been tested by Gruber *et al.* (2002*a*).

An intensive study of dormancy in a current range of cultivars authorized for use in Germany or the EU has not been done. Furthermore it is not certain whether this attribute remains constant when seeds are stored, or derived from different harvest years. As it is possible to simulate dormancy inducing conditions artificially in the laboratory, based on the techniques described by Pekrun (1994) and Pekrun *et al.* (1997*b*), a large number of cultivars and seeds could quite easily be tested simultaneously, at any time and under constant and defined environmental conditions.

The aim of the current study was to examine a large range of current oilseed rape cultivars in respect of their capacity of becoming secondarily dormant. Secondary dormancy was detected in laboratory studies and subsequent seed persistence was examined in experiments with seeds buried in soil. As well as comparing conventionally bred cultivars, the experiments studied the dormancy behaviour of genetically modified seeds in comparison to their near-isogenic, non-modified genotypes. The results from the laboratory experiments were compared to those obtained from seeds artificially buried in the soil. No previous studies are known that examine the correlation between laboratory and burial experiments. Such a comparison is essential if laboratory experiments are to be used to simulate field conditions.

MATERIALS AND METHODS

Cultivars studied

A total of 33 conventional cultivars was tested, 20 cultivars harvested in 2001 and 32 cultivars harvested in 2002 (Table 1). Furthermore, seed lots of three GM cultivars that were tolerant to the non-selective herbicide Liberty[®] (L-glufosinate) were tested in comparison to their near-isogenic counterparts (Table 2). The cultivar pairs were Lilly^{LL}/Liberator, Modul^{LL}/Falcon and Avalon^{LL}/Artus. Since Avalon^{LL} and Artus are hybrids, the F₁ generation (hybrid seed) was tested as well as the F₂ generation (harvested seed) to discern possible effects arising from F₂ segregation. All seed lots were taken from the harvested and cleaned crops.

Seed persistence of oilseed rape

31

Table 1. *Conventionally bred oilseed rape cultivars studied in laboratory and field burial experiments in 2 harvest years. H: hybrid, OP: open pollinator. Site 1: Böisingen, site 2: Hohenheim, site 3: Ihinger Hof*

Cultivar	Type	Site 2001	Site 2002
Adder	OP	–	2
Alaska	OP	–	2
Artus	H	Various	2
Bristol	OP	3	2
Capitol	OP	3	2
Catinka	OP	1	2
Contact	OP	1	2
Digger	OP	–	2
Elektra	H	–	2
Erox	OP	–	2
Escort	OP	1	–
Express	OP	1	2
Falcon	OP	–	2
Fornax	OP	–	2
Kapitan	H	–	2
Karola	OP	–	2
Laser	OP	1	2
Liberator	OP	Various	3
Licondor	OP	1	2
Lisabeth	OP	–	2
Maja	H	1	2
Maplus	OP	–	2
Mendel	H	–	2
Mohican	OP	1	2
Panther	H	1	2
Prince	OP	1	2
Pronto	H	–	2
Rapid	OP	1	2
Smart	OP	1	2
Susanna	H	1	2
Talent	H	1	2
Wotan	OP	3	2
Zenith	OP	1	2

The conventional material from 2001 mainly originated from the experimental field Böisingen, south-west Germany (Tables 1 and 3), and was harvested on 30 July 2001. In the second experimental year, seeds were mainly produced on an experimental field in Hohenheim, south-west Germany, and harvested on 23 July 2002. Additional seed lots from various other provenances were used for the experiments.

The GM material was harvested at various sites and years (Tables 2 and 3). Only in the cultivar pair Avalon^{LL} F₂/Artus F₂ (sites 4 and 5) were both components grown at the same site in the same year. Additionally, extra samples of the conventionally bred hybrid Artus (F₂) were tested in the same experiment to compare samples from the same cultivar, same generation and same harvest year but from another site ('various').

Table 2. *Transgenic/near-isogenic oilseed rape cultivars studied in laboratory and field burial experiments. GM: genetically modified, H: hybrid, OP: open pollinator; F₁, F₂: breeding generations. Site 4: Kleinmachnow, site 5: Bütthard*

Cultivar	Type	Site	Harvest year
Lilly ^{LL} (GM)	OP	Various	1998
Liberator	OP	Various	1996
Modul ^{LL} (GM)	OP	Various	1998
Falcon	OP	Various	2000
Avalon ^{LL} (GM)	H, F ₁	Various	1999
Artus	H, F ₁	Various	2000
Avalon ^{LL} (GM)	H, F ₂	4	2001
Artus	H, F ₂	4	2001
Avalon ^{LL} (GM)	H, F ₂	5	2001
Artus	H, F ₂	5	2001
Artus	H, F ₂	Various	2001

Laboratory experiments

All seeds were stored at room temperature (18–25 °C) and mainly kept in darkness until analysis. The seed lots were visually screened and all impurities, broken seeds and obviously mouldy seeds removed. Polyethylene glycol (PEG) was used to expose seeds to high water deficiency stress. This technique has been widely used for this purpose (Pekrun 1994; Pekrun *et al.* 1997b; Gruber *et al.* 2002a; Momoh *et al.* 2002). One hundred seeds per cultivar in four replicates were imbibed in an 8 ml PEG 6000 solution in 9 cm plastic Petri dishes with a double layer of filter paper. For induction of secondary dormancy, the concentration of the PEG 6000 solution was 354.37 g/l and matched an osmotic potential of –15 bar (permanent wilting point). The calculation was made according to Michel & Kaufmann (1979). The Petri dishes were put into metal boxes lined with black plastic film to exclude any light. After a 14 day induction period at 20 °C, seeds were transferred to Petri dishes with 6 ml deionized water and allowed to germinate in darkness over 14 days at 20 °C. Seeds that had not become secondarily dormant germinated during the 14 day germination test and were removed from the Petri dishes. At the control dates all operations were performed under a green safety light (500–600 nm). After 4 weeks, all remaining intact and non-germinated seeds were declared potentially dormant. In order to separate dormant seeds from the dead ones (neither of which would germinate), a viability check was performed by exposing the seeds to alternating temperatures of 30 °C/3 °C (12 h/12 h) and alternating light and darkness (12 h/12 h). This stratification stimulus would have overcome dormancy and allowed the viable and formerly dormant seeds to sprout.

Table 3. *Local characteristics of the main growing sites of oilseed rape studied in laboratory and field burial experiments in 2001 and 2002*

	Altitude (m a.s.l.)	Mean annual precipitation (mm)	Mean annual temperature (°C)	Soil texture
Bösingen (site 1)	690	800	6.9	Sandy loam
Hohenheim (site 2)	400	698	8.8	Clayey loam
Ihinger Hof (site 3)				
a (growing)	450	689	8.0	{ Loam Loam (loess) Loamy clay
b (burial conventional)				
c (burial transgenic)				
Kleinmachnow (site 4)	80	536	8.4	Sand/loess
Bütthard (site 5)	310	657	9.1	Silty loam
Various*		Not known in detail		

* Includes seed lots derived from a range of sites.

As only a limited number of cultivars could be analysed per day, about 2 weeks were needed to initiate the induction test for all cultivars. Previous tests had indicated that the capacity for becoming secondarily dormant could decrease with the time after harvest. Therefore, the test was performed three times at randomized dates for each cultivar in the first month following harvest in both 2001 and 2002 and three times starting 6 months later (only in 2002 with harvest material from 2001). Differences between cultivars that only result from an analysis at different stages of ageing should be avoided by this procedure. Overall, 1200 seeds per cultivar were analysed in each experiment. As a result the total of primarily and secondarily dormant seeds was obtained.

A parallel germination study tested the viability in darkness and the number of primarily dormant seeds. The experimental design was the same as for dormancy induction except excluding the imbibition phase on PEG.

Burial experiments

The trials were set up on the experimental station 'Ihinger Hof' of the University of Hohenheim. The station is located in south-west Germany with a mean annual precipitation of 689 mm and a mean annual temperature of 8 °C (Table 3). The release area for the GM cultivars was a loamy clay, and the area for the conventionally bred cultivars a loam (loess) soil. The burial of the seeds took place on 2 August 2001 and 5 August 2002 for the conventional cultivars and on 23 August 2001 and 16 August 2002 for the transgenic ones. Seeds buried in 2001 were exhumed after 6 months on 4 February 2002 (conventional cultivars) and 11 February 2002 (transgenic cultivars). Because of a long period of frost in winter 2002/2003, seeds from the second experimental year had to stay in the

soil for 7 months until 3 March 2003 (conventional) and 11 March 2003 (transgenic).

Seed lots of 500 seeds, visually screened as described for the laboratory experiments, were put into polyester mesh bags sized 15 × 15 cm. The material was a fabric with a mesh size of <0.5 mm that enabled the access of micro-organisms and small invertebrates, but did not allow an escape of rape seeds. The bags were buried in the field at a depth of 10 cm in a randomized block design with four replicates. Similar seed densities and clusters can be assumed to occur under field conditions when seeds accumulate in hollows or cracks. The area was protected against rain by a canopy for 4 weeks before and 3 weeks after burying the seeds in 2001, and 4 weeks before and 2 weeks after burying in 2002.

A 14-day germination test in light at 20 °C and a subsequent treatment with alternating temperatures of 30 °C/3 °C (12 h/12 h) and alternating light and darkness (12 h/12 h) to break dormancy confirmed the viability of exhumed seeds.

Statistics

The data have been transformed by an arc sine transformation in order to stabilize the variance and to adjust the data to a standard normal distribution when calculating the proportion of dormant seeds per viable seeds. The transformation equation was:

$$y = \arcsin\left(\sqrt{\frac{d + \frac{3}{80}}{v + \frac{3}{4}}}\right)$$

where y is the transformed value, d the absolute number of dormant seeds per replicate, and v the absolute number of viable seeds per replicate.

The analysis of variance was performed by the mixed model procedure (Littell *et al.* 1996) in the

Seed persistence of oilseed rape

33

Table 4. *Viability of seed lots of the conventionally bred oilseed rape cultivars harvested in 2001 and 2002, results of the germination test in darkness*

Cultivar	Viability (%)	
	2001	2002
Adder	–	97.0
Alaska	–	99.3
Artus	97.0	95.3
Bristol	95.0	98.0
Capitol	94.0	96.5
Catinka	96.0	91.8
Contact	91.5	90.5
Digger	–	98.0
Elektra	–	96.0
Erox	–	86.3
Escort	96.8	–
Express	96.5	78.5
Falcon	–	97.5
Fornax	–	96.0
Kapitan	–	95.8
Karola	–	97.3
Laser	96.8	95.5
Liberator	78.3	87.0
Licondor	98.5	91.3
Lisabeth	–	94.0
Maja	93.8	94.5
Maplus	–	95.8
Mendel	–	95.0
Mohican	98.5	91.3
Panther	97.5	93.0
Prince	97.5	95.3
Pronto	–	98.0
Rapid	95.3	97.3
Smart	92.3	99.5
Susanna	98.0	98.8
Talent	98.3	99.3
Wotan	93.8	97.3
Zenith	92.3	98.5

statistical package SAS (SAS Institute). Significances between cultivars were determined by a *t*-test (Satterthwaite's approximation).

RESULTS

Laboratory experiments

Conventionally bred cultivars

The viability of the tested rape seed cultivars was 78.3–98.5% in 2001 and 78.5–99.5% in 2002 (Table 4).

In the cultivars harvested in 2001, the percentage of dormant seeds ranged from 12.8–76.2% (Table 5), with a mean of 47.4%. This included both the secondarily and the primarily dormant seeds. In

nearly all cultivars tested shortly after harvest a low percentage of primary dormancy was present, as confirmed by the parallel germination test. This basic dormancy was less than about 2% in most cultivars, but also reached 15% in one cultivar (Capitol, Table 5). Those cultivars that had a relatively high primary dormancy tended to result in a high total (primary plus secondary) dormancy.

After 6 months' storage at room temperature total dormancy had declined to a mean value of 9.4% with a minimum of 0.6% and a maximum of 43.3%. No primary dormancy was detected in the cultivars by this stage.

Highly significant differences occurred between the cultivars in freshly harvested material and after 6 months' storage. The storage time had a highly significant influence on the dormancy level of the cultivars but there were also significant interactions between cultivars and storage time, indicating that the reaction of the cultivars to storage time was not uniform.

Total dormancy of the increased range of cultivars harvested in 2002 ranged from 3.2–75.6%, with a mean of 33.1% (Table 6).

Primary dormancy in the 2002 experiment did not exceed 5.2% dormant seeds/viable seeds in all cultivars.

There was a positive significant correlation of 0.71 when those cultivars that were tested in both harvest years were compared (Fig. 1).

Transgenic cultivars

Some differences in the level of dormancy were observed within the comparison of transgenic and the corresponding near-isogenic counterparts (Table 7), when the seed lots derived from various sites and harvest years. Since there was no primary dormancy, the entire dormancy could be regarded as secondary dormancy.

Secondary dormancy of transgenic cultivars ranged from 0.9–30.8%. The highest dormancy within the transgenic cultivars was found in freshly harvested Avalon^{LL} F₂ seeds, whereas dormancy was lowest in Modul^{LL}. While no significant differences were detected between the transgenic cultivar and its near-isogenic counterpart in pairs with the same origin (Avalon^{LL} F₂/Artus F₂, sites 4 and 5) they apparently occurred in Lilly^{LL}/Liberator and Modul^{LL}/Falcon pairs, grown on various sites and in various years. Where the same cultivars were collected from different sites in the same year (Table 7, 'comparison of two sites') there were significant differences. A direct comparison of the dormancy levels between cultivars grown on site 5 and the same cultivars on other sites could not be done since the cultivars from site 5 were analysed 9 months after the harvest. The seeds may have lost their capacity for becoming secondarily dormant while ageing.

Table 5. Total (secondary and primary) and primary dormancy of conventionally bred oilseed rape cultivars harvested in 2001, tested freshly harvested and after 6 months storage, in laboratory experiments; data are sine transformed (*T*); in parentheses: detransformed data (*DT*) (% dormant seeds/viable seeds); s.e. (standard error of mean) transformed: 0.02

Cultivar	Total dormancy*		Primary dormancy†		Total dormancy*		Primary dormancy†‡
	Freshly harvested				Six months stored		
	<i>T</i>	(<i>DT</i>) (%)	<i>T</i>	(<i>DT</i>) (%)	<i>T</i>	(<i>DT</i>) (%)	
Artus	0.78	(49.8)	0.08	(0.6)	0.15	(2.2)	–
Bristol	0.98	(68.7)	0.30	(8.8)	0.56	(28.2)	–
Capitol	1.04	(74.3)	0.40	(15.4)	0.36	(12.6)	–
Catinka	0.37	(12.8)	0.09	(0.9)	0.13	(1.7)	–
Contact	0.73	(44.8)	0.08	(0.6)	0.11	(1.3)	–
Escort	0.69	(40.8)	0.12	(1.5)	0.10	(1.0)	–
Express	0.44	(17.8)	0.06	(0.4)	0.08	(0.7)	–
Laser	0.88	(59.7)	0.15	(2.3)	0.38	(13.9)	–
Liberator	0.77	(48.5)	0.07	(0.5)	0.60	(31.5)	–
Licondor	0.99	(70.1)	0.19	(3.7)	0.20	(3.9)	–
Maja	0.68	(39.8)	0.08	(0.6)	0.22	(4.7)	–
Mohican	0.93	(63.9)	0.10	(1.0)	0.40	(15.3)	–
Panther	0.69	(40.6)	0.06	(0.4)	0.19	(3.7)	–
Prince	0.79	(50.5)	0.19	(3.6)	0.29	(8.1)	–
Rapid	0.72	(43.6)	0.12	(1.5)	0.14	(2.1)	–
Smart	1.06	(76.2)	0.31	(9.2)	0.72	(43.3)	–
Susanna	0.41	(15.8)	0.12	(1.5)	0.08	(0.6)	–
Talent	0.61	(32.6)	0.09	(0.8)	0.16	(2.4)	–
Wotan	0.65	(37.0)	0.12	(1.3)	0.10	(0.9)	–
Zenith	0.89	(60.8)	0.20	(3.8)	0.32	(9.9)	–
Mean	0.76	(47.4)	0.15	(2.9)	0.27	(9.4)	–
<i>F</i> -test:	cultivar freshly harvested***						
	cultivar 6 months stored***						
	storage time***						
	cultivar × storage time***						

* Germination test after dormancy induction.

† Germination test without previous dormancy induction.

‡ No calculation because no primarily dormant seeds found at all.

*** $P \leq 0.001$.

Burial experiments

Conventionally bred cultivars

All seeds named here as 'persistent' were recorded intact and positively checked for viability in a germination test in light (14 days) with following exposure to alternating temperatures and light/darkness rhythms (7 days). Seeds in some bags were obviously affected by nematodes, collembola or coleopteran larvae.

After 6–7 months' burial in soil, a considerable number of the former 500 seeds per bag were recovered. Depending on the cultivar, 33.8–89.7% of the seeds were still viable in February 2002 (Table 8), and 7.2–67.5% in March 2003.

Significant differences existed between the cultivars tested in 2001 as well as between those tested in 2002.

For the comparison of both experimental years, only those cultivars used in both years were included. There was a significant, positive correlation of 0.61 between the persistence values of the burial experiments and the dormancy levels obtained in the laboratory experiments in 2001 (Fig. 2). In the second experimental year, with the extended range of cultivars, the correlation coefficient of burial and laboratory experiments was 0.80 (Fig. 3).

Transgenic cultivars

The persistence of the transgenic cultivars buried in 2001 ranged from 12.0% (Modul^{LL}) to 79.1% (Lilly^{LL}) seeds/buried seeds (Table 9).

No significant differences existed between the transgenic cultivar and its near-isogenic counterpart

Seed persistence of oilseed rape

35

Table 6. Total (secondary and primary) and primary dormancy of conventionally bred oilseed rape cultivars harvested in 2002, tested freshly harvested, in laboratory experiments; data arc sine transformed (T); in parentheses: detransformed data (DT) (% dormant seeds/viable seeds); s.e. (standard error of mean) transformed: 0.02

Cultivar	Total dormancy*		Primary dormancy†	
	T	(DT) (%)	T	(DT) (%)
Adder	0.18	(3.2)	0.06	(0.4)
Alaska	0.22	(4.9)	0.06	(0.4)
Artus	0.48	(21.6)	0.08	(0.6)
Bristol	0.66	(37.9)	0.19	(3.4)
Capitol	0.98	(69.3)	0.13	(1.7)
Catinka	0.55	(27.7)	0.09	(0.9)
Contact	0.78	(49.9)	0.06	(0.4)
Digger	0.85	(56.3)	0.11	(1.1)
Elektra	0.54	(26.1)	0.10	(1.1)
Erox	0.67	(38.6)	0.07	(0.4)
Express	0.29	(8.2)	0.07	(0.5)
Falcon	0.29	(8.0)	0.06	(0.4)
Fornax	0.56	(28.4)	0.10	(1.0)
Kapitan	0.82	(53.4)	0.06	(0.4)
Karola	0.38	(13.8)	0.08	(0.6)
Laser	0.94	(65.6)	0.16	(2.6)
Liberator	0.74	(45.9)	0.14	(1.9)
Licondor	0.67	(38.7)	0.08	(0.6)
Lisabeth	0.73	(44.5)	0.06	(0.4)
Maja	0.62	(33.8)	0.06	(0.4)
Maplus	0.22	(4.7)	0.06	(0.4)
Mendel	0.54	(26.4)	0.06	(0.4)
Mohican	0.85	(56.7)	0.16	(2.5)
Panther	0.48	(21.0)	0.08	(0.6)
Prince	0.58	(30.5)	0.08	(0.6)
Pronto	0.46	(19.6)	0.06	(0.4)
Rapid	0.43	(17.3)	0.08	(0.6)
Smart	1.05	(75.6)	0.23	(5.2)
Susanna	0.50	(22.6)	0.06	(0.4)
Talent	0.67	(38.9)	0.08	(0.6)
Wotan	0.28	(7.8)	0.06	(0.4)
Zenith	0.90	(61.5)	0.08	(0.6)
Mean	0.59	(33.1)	0.09	(0.8)

F-test cultivar: ***

* Germination test after dormancy induction.

† Germination test without previous dormancy induction; no zero values due to transformation, although no primary dormancy was existing if transformed data were 0.06 and 0.07.

*** $P \leq 0.001$.

in the cultivar pairs Lilly^{LL}/Liberator and Avalon^{LL} F₂/Artus F₂ (site 4), whereas significant differences were observed in Modul^{LL}/Falcon and Avalon^{LL} F₁/Artus F₁. The comparison between Artus F₂ at the two sites 4 and 'various' from the same harvest years also resulted in significant differences. A corre-

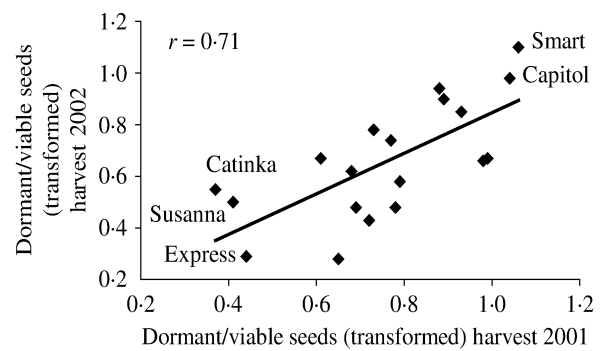


Fig. 1. Correlation between total dormancy (dormant seeds/viable seeds) of freshly harvested oilseed rape cultivars from different harvest years and sites after induction of secondary dormancy in the laboratory; data arc sine transformed, correlation significant ($n=19$, $P<0.05$).

lation between laboratory and burial experiments or between the 2 experimental years was not calculated due to the small data pool. Persistence of transgenic seeds buried in 2002 was found to range from 45.9% (Modul^{LL}) to 67.3% (Lilly^{LL}), as shown in Table 9. There were no significant differences between the components of each cultivar pair.

DISCUSSION

Conventionally bred cultivars

The results indicated that there was a range of possibly secondarily dormant genotypes within the currently available rape seed cultivars. This supports the studies of Pekrun *et al.* (1997a) and Momoh *et al.* (2002), who also found large genetic variability in secondary dormancy in European and Chinese cultivars in laboratory experiments. Some conventionally bred cultivars and genetically modified ones included in the present study developed only low levels of secondary dormancy. Nevertheless, there were none showing no secondary dormancy at all, an observation that was made both in the laboratory experiments and in the burial experiments. Momoh *et al.* (2002) identified a few zero dormant genotypes within the cultivars they tested. However, since there is no exact information on storage time between harvest and the start of the experiments given by the authors, the effect could be attributable as much to ageing as to genotype.

In general, it is not yet established whether the dormancy level of a cultivar is the same in the progeny of all individual plants or is the sum of possibly different dormancy levels of the progeny of all the individuals. It can be suggested, at least in cultivars from open pollinated breeding systems, that secondary dormancy is heterogeneously distributed within a cultivar. Hence cultivars with a low dormancy may include some individuals without the capacity for secondary dormancy.

Table 7. Secondary dormancy of genetically modified and near-isogenic oilseed rape cultivars from different growing sites tested in laboratory; sites 4, 5 and Artus F₂ 'various sites' harvested 2001, other various years before; data arc sine transformed (T); in parentheses: detransformed data (DT) (% dormant seeds/viable seeds); s.e. (standard error of mean) transformed: 0.08

Comparison of genotypes						
Transgenic cultivar	Total dormancy		Near-isogenic counterpart	Total dormancy		Difference
	T	(DT) (%)		T	(DT) (%)	
Lilly ^{LL} (various sites)	0.39	(14.2)	Liberator (various sites)	0.87	(58.2)	***†
Modul ^{LL} (various sites)	0.09	(0.9)	Falcon (various sites)	0.23	(5.3)	*†
Avalon ^{LL} F ₁ (various sites)	0.23	(5.2)	Artus F ₁ (various sites)	0.22	(4.8)	n.s.†
Avalon ^{LL} F ₂ (site 4)	0.59	(30.8)	Artus F ₂ (site 4)	0.63	(35.0)	n.s.†
Avalon ^{LL} F ₂ (site 5)	0.41	(15.6)	Artus F ₂ (site 5)	0.41	(16.1)	n.s.†
Comparison of two sites						
Artus F ₂ (various sites)	0.47	(20.4)	Artus F ₂ (site 4)	0.63	(35.0)	***‡

† Between transgenic and near-isogenic counterpart.

‡ Between the sites.

* $P \leq 0.05$; ** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$.

The significant correlation of 0.71 between the dormancy values in the laboratory in the 2001 and 2002 studies is an indication of the presence of a genetic background of secondary dormancy. There will still be environmentally induced variation between the 2 harvest years and arising from the different provenances of the seeds. A higher correlation might have been achieved if seeds from the same location had been used.

The fact that freshly harvested rape seed can exhibit a small level of primary dormancy corresponds with observations of Schlink (1993), who recorded that the primary dormancy which prevents the seeds from germinating while ripening on the plants declined with maturation of seeds such that it was virtually absent at the time of harvest. It is possible that this process had not always completely finished at the common harvest date of the oilseed rape cultivars used in the present study, or that the material used in the experiments was harvested before being physiologically ripe.

A physiological connection between primary and secondary dormancy may exist as the highest values of primary dormancy were observed in cultivars with high total and secondary dormancy. It is evident that primarily dormant seeds from incompletely ripened crops can enter the soil seed bank and cause volunteers at some time after harvest. The influence of seed age on primary dormancy has also been demonstrated by the absence of any primary dormancy after 6 months' seed storage in the conventionally bred cultivars. As well as the loss of primary dormancy

during 6 months' storage, the mean level of potential secondary dormancy of the cultivars decreased noticeably to about a fifth compared with the level shortly after harvest. Seed age as a factor affecting dormancy or persistence levels of rapeseed was tested in burial experiments by Schlink (1995). Seeds stored for 1 year did not persist in the soil for as long as fresh seeds. Assuming that seed persistence in soil is the result of secondary dormancy, the experiments from Schlink corroborate the hypothesis of the influence of seed age on the ability to become secondarily dormant. As the current study shows most significant interactions between cultivars and storage time, no conclusions can be drawn from stored seeds as to the dormancy level of freshly harvested seeds, or to the ranking in dormancy levels of the cultivars. Nevertheless, the critical point is that the time when seeds are naturally broadcast onto the soil during the harvest corresponded to the first analysis date, which therefore provides direct evidence about potential persistence of seeds in soil.

Mean survival rates of 66% (2001) and 33% (2002) viable seeds after half a year in the soil from burial experiments correspond with the results from Schlink (1995), who found 47% in the same burial time and nearly the same burial depth.

The significantly positive correlation between laboratory and burial experiments of 0.61 and 0.80 in 2001 and 2002 with conventionally bred material indicates that, in general, both methods recorded the same effect. Differences can be explained by the environmental variance between the 2 harvest years and

Seed persistence of oilseed rape

37

Table 8. Seed persistence (persistent seeds/buried seeds) of conventionally bred oilseed rape cultivars, harvested in 2001 and 2002, freshly harvested and buried for 6 (in 2001) or 7 (in 2002) months; data arc sine transformed (*T*); in parentheses: detransformed data (*DT*) (%); *s.e.* (standard error of mean) transformed 2001: 0.12, 2002: 0.11

Cultivar	Persistent/buried seeds			
	2001		2002	
	<i>T</i>	(<i>DT</i>) (%)	<i>T</i>	(<i>DT</i>) (%)
Adder	–	–	0.27	(7.2)
Alaska	–	–	0.67	(38.2)
Artus	1.13	(81.7)	0.53	(25.3)
Bristol	0.88	(59.7)	0.68	(39.7)
Capitol	1.18	(85.5)	0.85	(56.6)
Catinka	0.62	(33.8)	0.67	(38.5)
Contact	0.65	(37.1)	0.79	(50.0)
Digger	–	–	0.73	(44.1)
Elektra	–	–	0.49	(21.8)
Erox	–	–	0.60	(32.3)
Escort	0.97	(68.3)	–	–
Express	0.84	(55.3)	0.55	(27.2)
Falcon	–	–	0.35	(11.5)
Fornax	–	–	0.43	(17.6)
Kapitan	–	–	0.70	(41.7)
Karola	–	–	0.52	(25.0)
Laser	1.08	(77.8)	0.71	(42.7)
Liberator	0.85	(56.6)	0.93	(64.0)
Licondor	1.24	(89.7)	0.64	(35.4)
Lisabeth	–	–	0.65	(36.9)
Maja	0.83	(54.5)	0.43	(17.3)
Maplus	–	–	0.27	(7.2)
Mendel	–	–	0.67	(39.0)
Mohican	0.89	(60.0)	0.71	(42.9)
Panther	1.07	(76.8)	0.46	(20.0)
Prince	1.07	(76.7)	0.68	(39.7)
Pronto	–	–	0.42	(16.5)
Rapid	0.89	(60.7)	0.31	(9.4)
Smart	1.15	(83.5)	0.96	(67.5)
Susanna	0.81	(52.5)	0.40	(14.9)
Talent	1.13	(81.6)	0.68	(39.7)
Wotan	0.92	(63.6)	0.42	(16.7)
Zenith	1.00	(71.0)	0.91	(62.5)
Mean	0.96	(66.3)	0.59	(32.8)
<i>F</i> -test cultivars:	**		***	
	(comparison 2001)		(comparison 2002)	

** $P \leq 0.01$; *** $P \leq 0.001$.

by the extended sample size in 2002. Therefore, the laboratory method that allows a quick testing of a high number of samples is able to reproduce field conditions in a certain scale and could replace burial experiments for cultivar screening.

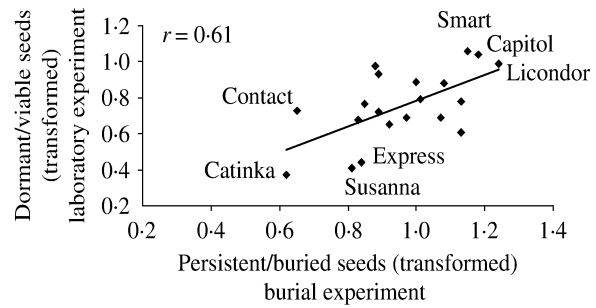


Fig. 2. Correlation between seed persistence (persistent seeds/buried seeds) obtained from burial experiments and seed dormancy (dormant seeds/viable seeds) artificially induced in laboratory for conventionally bred oilseed rape cultivars harvested 2001; burial and laboratory experiment with freshly harvested seeds; data arc sine transformed, correlation significant ($n = 20$, $P < 0.05$).

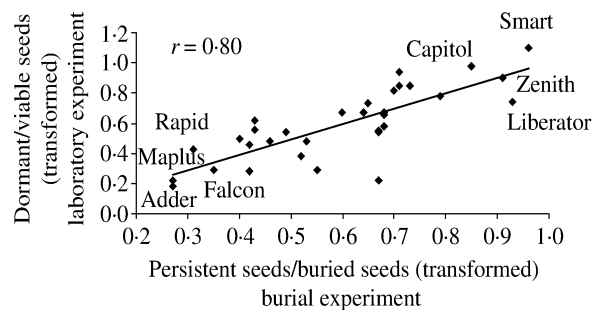


Fig. 3. Correlation between seed persistence (persistent seeds/buried seeds) obtained from burial experiments and seed dormancy (dormant seeds/viable seeds) artificially induced in laboratory for conventionally bred oilseed rape cultivars harvested 2002; burial and laboratory experiment with freshly harvested seeds; data arc sine transformed, correlation significant ($n = 32$, $P < 0.05$).

Transgenic cultivars

As with the conventionally bred cultivars, various levels of secondary dormancy were found in the transgenic cultivars. The comparison of the transgenic/near-isogenic cultivar pairs in the laboratory experiments showed that they could differ in the level of secondary dormancy, but they did not if both partners were grown on the same field and harvested in the same year as shown with Avalon^{LL} F₂/Artus F₂. As well as the fact that rape seed cultivars are not completely homogeneous and consequently the offspring of a single transformed plant can easily differ in some attributes from the isogenic line, the most plausible explanation of the differences in dormancy are the different seed ages as shown for the conventionally bred cultivars, and various environmental conditions experienced by the seeds during maturation. This assumption is supported by the significant differences in secondary dormancy between samples of Artus F₂ from different growing sites.

Table 9. Seed persistence (persistent seeds/buried seeds) of genetically modified and near-isogenic oilseed rape cultivars, harvested in 2001 and 2002, freshly harvested and buried for 6 (in 2001) or 7 (in 2002) months; data are sine transformed, in parentheses: detransformed data (%); s.e. (standard error of mean) transformed in 2001: 0.09; in 2002: 0.11

Transgenic cultivar	Persistent/buried seeds (%)		Near-isogenic counterpart	Persistent/buried seeds (%)		Difference
	T	(DT) (%)		T	(DT) (%)	
Comparison of genotypes 2001						
Lilly ^{LL} (various sites)	1.10	(79.1)	Liberator (various sites)	0.86	(57.7)	n.s.†
Modul ^{LL} (various sites)	0.35	(12.0)	Falcon (various sites)	0.79	(50.9)	**†
Avalon ^{LL} F ₁ (various sites)	1.07	(76.6)	Artus F ₁ (various sites)	0.64	(35.7)	**†
Avalon ^{LL} F ₂ (site 4)	0.78	(49.1)	Artus F ₂ (site 4)	0.79	(50.1)	n.s.†
Comparison of genotypes 2002						
Lilly ^{LL} (various sites)	0.93	(67.3)	Liberator (various sites)	1.07	(77.3)	n.s.†
Modul ^{LL} (various sites)	0.74	(45.9)	Falcon (various sites)	0.94	(65.1)	n.s.†
Avalon ^{LL} F ₁ (various sites)	0.92	(62.9)	Artus F ₁ (various sites)	1.07	(77.3)	n.s.†
Comparison of two sites 2001						
Artus F ₂ (various sites)	1.18	(85.7)	Artus F ₂ (site 4)	0.79	(50.1)	**‡

† Between transgenic and near-isogenic counterpart.

‡ Between cultivars on the two sites.

** $P \leq 0.01$.

The inconsistent results of the burial experiments with transgenic material and their near-isogenic counterparts between the experimental years and in comparison to the laboratory experiment may also be attributable to the various seed ages and provenances of the seed tested. An effect of genetic segregation of the two generations from hybrid material tested could not be deduced from the results.

The studies of Hails *et al.* (1997) showed that there was no indication of a side-effect of GM herbicide tolerance enhancing seed persistence, though GM cultivars were sporadically even less persistent than the control. Furthermore, the examination of invasivity and persistence of genetically modified rape plants by Crawley *et al.* (2001) in a long-term study showed no differences between the GM plants and their conventional counterparts. Higher persistence rates in GM (high stearate) Canola seeds compared with conventionally bred counterparts as partly observed by Linder & Schmitt (1995) can probably be attributed exclusively to the modified fatty acid pattern. In consideration of these results and the data presented in the current paper there is no implication of a direct effect of the genetic modification of the transgenic cultivars on seed dormancy and seed persistence.

The results of the present study provide information in several fields of activity for the work with secondary dormancy in oilseed rape: seed testing methodology, practical farming and future breeding work. For the methodological aspect, any future

dormancy testing experiments should only compare seeds of the same age and same provenance in order to avoid effects of genotypic and environmental interactions. Finally, the present work shows that the laboratory method is generally suitable to reproduce persistence effects in soil and is suitable for screening cultivars for the dormancy characteristics.

With regard to oilseed rape volunteers and gene escape it is obvious that all currently available cultivars can become more or less secondarily dormant and consequently may enter the soil seed bank. This process can take place at least over half a year. Although no prediction can be concluded from the results of the present study for a long-term persistence, the choice of low-dormant genotypes for growing oilseed rape would reduce the number of volunteer plants in subsequent years. As nearly all breeders who provided seed lots for the current study have been represented by comparatively low and comparatively high dormant cultivars, there seemed to be no link of dormancy levels to specific breeders. The classification of cultivars in the wide range examined in the present study offers the chance to farmers to choose genotypes shown to be low persistent.

As well as these immediately realizable results the range of cultivars tested can be used for ideotyping low- or no-persistent genotypes.

The authors would like to thank Bayer CropScience, D. Brauer, Deutsche Saatveredelung (DSV), KWS Saat AG, Limagrain, Monsanto SASS,

Nickerson Seeds Limited, Norddeutsche Pflanzenzucht (NPZ), Raps GbR, Saatzeit P. H. Petersen, Semundo Saatzeit GmbH and Syngenta Seeds

GmbH for support and providing seeds. Funding by the German Federal Ministry for Education and Research is gratefully acknowledged.

REFERENCES

- AMRITPHALE, D., GUTCH, A. & HSIAO, A. I. (1995). Phytochrome-mediated germination control of *Hygrophila auriculata* seeds following dry storage augmented by temperature pulse, hormones, anaerobiosis or osmoticum imbibition. *Environmental and Experimental Botany* **35**, 187–192.
- BENECH-ARNOLD, R. L., SÁNCHEZ, R. A., FORCELLA, F., KRUK, B. C. & GHERSA, C. M. (2000). Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* **67**, 105–122.
- BEWLEY, J. D. & BLACK, M. (1994). Dormancy and the control of germination. In *Seeds: Physiology of Development and Germination* (Eds J. D. Bewley & M. Black), pp. 199–267. New York: Plenum Press.
- BOOTH, E. J., WALKER, K. C., WHYTOCK, G. P. & SOVERO, M. (1996). Assessment of the ecological consequences of introducing transgenic rapeseed. In *Book of Abstracts, 4th Congress of the European Society for Agronomy* (Eds M. K. van Ittersum, G. E. G. T. Venner, S. C. van der Geijn & T. H. Jetten), pp. 144–145. Veldhoven-Wageningen, The Netherlands: ESA.
- BOWERMAN, P. (1993). Effects of cultivation upon volunteer oilseed rape. *Aspects of Applied Biology* **35**, 163–166.
- CASAL, J. J. & SÁNCHEZ, R. A. (1998). Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research* **8**, 317–329.
- CRAWLEY, M. J., BROWN, S. L., HAILS, R. S., KOHN, D. D. & REES, M. (2001). Biotechnology: Transgenic crops in natural habitats. *Nature* **409**, 682–683.
- DYER, W. E. (1995). Exploiting weed seed dormancy and germination requirements through agronomic practices. *Weed Science* **43**, 498–503.
- GASKELL, G., ALLUM, N. & STARES, S. (2003). *Europeans and Biotechnology in 2002 (Eurobarometer 58.0)*, a report to the European Commission Directorate General for Research. http://europa.eu.int/comm/public_opinion/archives/eb/ebs_177_en.pdf; page visited: 29 December 2003.
- GRUBER, S., PEKRUN, C. & CLAUPEIN, W. (2002a). Variation of secondary dormancy in genetically modified and conventionally bred oilseed rape. In *VII Congress of the European Society for Agronomy* (Eds F. J. Villalobos & L. Testi), pp. 187–188. Cordoba, Spain: ESA.
- GRUBER, S., PEKRUN, C. & CLAUPEIN, W. (2002b). Einfluss von Genotyp und Bodenbearbeitung auf den Bodensamenvorrat von Ausfallraps. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **14**, 169–170.
- GRUBER, S., PEKRUN, C. & CLAUPEIN, W. (2004). Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy* **20**, 351–361.
- HAILS, R. S., REES, M., KOHN, D. D. & CRAWLEY, M. J. (1997). Burial and seed survival in *Brassica napus* subsp. *oleifera* and *Sinapis arvensis* including a comparison of transgenic and non-transgenic lines of the crop. *Proceedings of the Royal Society London Series B* **264**, 1–7.
- KARSSEN, C. M. (1980/81). Environmental conditions and endogenous mechanisms involved in secondary dormancy of seeds. *Israel Journal of Botany* **29**, 45–64.
- LINDER, C. R. & SCHMITT, J. (1995). Potential persistence of escaped transgenes: performance of transgenic, oil-modified Brassica seeds and seedlings. *Ecological Applications* **5**, 1056–1068.
- LITTELL, R. C., MILLIKEN, G. A., STROUP, W. W. & WOLFINGER, R. D. (1996). *SAS® System for Mixed Models*. Cary, NC: SAS Institute Inc.
- LÓPEZ-GRANADOS, F. & LUTMAN, P. J. W. (1998). Effect of environmental conditions on the dormancy and germination of volunteer oilseed rape seed (*Brassica napus*). *Weed Science* **46**, 419–423.
- LUTMAN, P. J. W. (1993). The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Aspects of Applied Biology* **35**, 29–36.
- MICHEL, B. E. & KAUFMANN, M. R. (1979). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* **51**, 914–916.
- MOHLER, C. L. & CALLOWAY, M. B. (1992). Effects of tillage and mulch on the emergence and survival of weeds in sweet corn. *Journal of Applied Ecology* **29**, 21–34.
- MOMOH, E. J. J., ZHOU, W. J. & KRISTIANSSON, B. (2002). Variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape genotypes under conditions of stress. *Weed Research* **42**, 446–455.
- PEKRUN, C. (1994). *Untersuchungen zur sekundären Dormanz bei Raps* (*Brassica napus* L.). Ph.D. thesis, Georg-August University Göttingen, Göttingen, Germany.
- PEKRUN, C. & CLAUPEIN, W. (1999). Bedeutung der Stoppelbearbeitung als pflanzenbauliche Maßnahme zur indirekten Unkrautkontrolle. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **12**, 59–60.
- PEKRUN, C., POTTER, T. C. & LUTMAN, P. J. W. (1997a). Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. In *Proceedings of the 1997 Brighton Crop Protection Conference – Weeds*, pp. 243–248. Farnham, Surrey, UK: BCPC.
- PEKRUN, C., LUTMAN, P. J. W. & BAEUMER, K. (1997b). Induction of secondary dormancy in rape seeds (*Brassica napus* L.) by prolonged imbibition under conditions of water stress or oxygen deficiency in darkness. *European Journal of Agronomy* **6**, 245–255.
- PEKRUN, C., RIFFEL, H., ALBERTINI, A., LUTMAN, P. J. W. & CLAUPEIN, W. (1998a). Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Ausbildung einer Samenbank bei Raps – Ergebnisse von sechs Standorten in England und einem in Österreich. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **11**, 51–52.
- PEKRUN, C., LUTMAN, P. J. W. & BAEUMER, K. (1998b). Research on volunteer rape: a review. *Pflanzenbauwissenschaften* **2**, 84–90.
- PEKRUN, C., HEWITT, J. D. J. & LUTMAN, P. J. W. (1998c). Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Journal of Agricultural Science, Cambridge* **130**, 155–163.

- PRICE, J. S., HOBSON, R. N., NEALE, M. A. & BRUCE, D. M. (1996). Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *Journal of Agricultural Engineering Research* **65**, 183–191.
- ROLLER, A., BEISMANN, H. & ALBRECHT, H. (2002). Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape – first observations under practically relevant conditions in South Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection. Special Issue XVIII*, 255–260.
- SCHLINK, S. (1993). Primäre Dormanz bei Körnererbsensorten. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **6**, 153–156.
- SCHLINK, S. (1994). *Ökologie der Keimung und Dormanz von Körnererbsen (Brassica napus L.) und ihre Bedeutung für eine Überdauerung der Samen im Boden*. Ph.D. thesis, Georg-August University Göttingen, Göttingen, Germany.
- SCHLINK, S. (1995). Überdauerungsvermögen und Dormanz von Rapsamen (*Brassica napus* L.) im Boden. In *Proceedings of the 9th Symposium of the European Weed Research Society* (Ed. L. Radics), pp. 65–72. Budapest, Hungary: EWRS.
- SCHLINK, S. (1998). 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Journal of Plant Diseases and Protection. Special Issue XVI*, 169–172.
- SQUIRE, R. G. (1999). Temperature and heterogeneity of emergence time in oilseed rape. *Annals of Applied Biology* **135**, 439–447.
- VLEESHOUWERS, L. M., BOUWMEESTER, H. J. & KARSEN, C. M. (1995). Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* **83**, 1031–1037.

4 Reducing oilseed rape (*Brassica napus*) volunteers by selecting genotypes with low seed persistence

Zeitschrift für Pflanzenkrankheiten und Pflanzenschutz
Journal of Plant Diseases and Protection
Sonderheft XIX, 151-159 (2004), ISSN 0938-9938
© Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart

Reducing oilseed rape (*Brassica napus*) volunteers by selecting genotypes with low seed persistence

S. GRUBER*, C. PEKRUN, W. CLAUPEIN

Universität Hohenheim, Institut für Pflanzenbau und Grünland, Fruwirthstr. 23, D-70599 Stuttgart,
e-mail: grubersf@uni-hohenheim.de

* Corresponding author

Summary

The outcome of four winter rape seed cultivars from harvest losses of 3,000 to 3,500 seeds m⁻² was observed over the following year. Immediately after harvest in July stubble tillage was performed at 8 cm, and followed by ploughing at 20 cm in October shortly before seeding the following winter wheat. 15 up to 25 % of all seeds emerged in autumn before primary tillage. Some cultivars significantly differed in building up a soil seed bank that reached up to 11 % of the whole seed losses, with most seeds occurring in a soil layer from 10 to 20 cm depth. Simultaneously performed laboratory experiments on secondary dormancy resulted in the same ranking within the cultivars as seeds were found in the soil seed bank.

A maximum number of 0.2 volunteers m⁻² flowered in June 2003 depending on the amount of the soil seed bank of each cultivar. Outcrossing and gene dispersal in space was unlikely since the flowering period on adjacent rape crops had already finished that time. According to the results of this study selecting and growing suitable oilseed rape genotypes offers a perspective to reduce the number and disadvantages of volunteers in following crops.

Keywords: *Brassica napus* L., volunteers, gene dispersal, soil seed bank, persistence, genotype

Zusammenfassung

Verminderung von Durchwuchsraaps (Brassica napus) durch Auswahl von Genotypen mit geringer Überdauerungsneigung der Samen

Nach der Ernte von vier Winterrapsorten mit Ausfallverlusten von 3.000 bis 3.500 Samen m⁻² wurde der Verbleib der Ausfallsamen über das folgende Jahr beobachtet. Unmittelbar im Anschluss an die Ernte im Juli 2002 erfolgte eine Stoppelbearbeitung auf 8 cm Tiefe, und Mitte Oktober vor der Aussaat der Folgefrucht Winterweizen eine Grundbodenbearbeitung mit Pflug auf 20 cm Tiefe. Vor der Grundbodenbearbeitung im Herbst liefen 15 bis 25 % aller Samen auf. Mit zum Teil signifikanten Unterschieden zwischen den Sorten gingen bis zu 11 % aller ausgefallenen Samen in den Bodensamenvorrat über; dabei befand sich der überwiegende Anteil des Samenvorrats in einer Bodentiefe von 10 bis 20 cm. Die unterschiedliche Überdauerungsneigung der Sorten im Feld stimmte mit der jeweiligen Fähigkeit zur Ausbildung sekundärer Dormanz im Laborversuch überein.

Im Frühjahr und Sommer auflaufender Durchwuchsraaps kam mit maximal 0,2 Pflanzen m⁻² im Juni 2003 zur Blüte. Die Anzahl blühender Pflanzen hing vom Umfang des Bodensamenvorrats der jeweiligen Sorte ab. Benachbarte Rapsbestände hatten zu diesem Zeitpunkt die Blüte bereits abgeschlossen, so dass eine Auskreuzung und ein räumlicher Gentransfer in diesem Versuchsjahr kaum stattfinden konnten.

Die Ergebnisse der Studie verdeutlichen, dass sich durch Selektion und Anbau geeigneter Genotypen Durchwuchsraaps und seine unerwünschten Auswirkungen in Folgekulturen reduzieren lassen.

Stichwörter: *Brassica napus* L., Durchwuchsraaps, Gentransfer, Bodensamenbank, Persistenz, Genotyp

Introduction

The genetic information of oilseed rape genotypes can be conserved over several vegetation periods by seeds persisting in the soil (ROLLER *et al.* 2002, SIMARD *et al.* 2002). Even though this phenomenon refers to all genotypes in general, problems may arise with growing genotypes with particular qualities, or growing genetically modified (GM) genotypes.

Emerging volunteers are a source for pollen and newly produced seeds (GRUBER *et al.* 2004) that may contaminate a following rape crop on the original area and also crops on adjacent fields. Since the varietal purity has often to meet quality standards given by the purchaser, or has to conform to legal requirements as given by the labelling threshold that will limit intermixtures of transgenic components into conventionally bred food or feed, the control of volunteers is gaining in importance.

Another undesired effect of volunteers is the weedy impact in general. Especially within a following rape crop in short rotations emerging volunteers can be controlled neither chemically nor mechanically. Hence these plants can increase the plant density, act as a link for rotation diseases or cause problems during harvest due to their different stage of maturity.

Since seed losses from bursting pods during harvest reach up to 10,000 seeds m⁻² and more (LUTMAN 1993, PEKRUN and CLAUPEIN 2002, GULDEN *et al.* 2003), a considerable number of seedlings has to be expected either directly following harvest or later on if seeds become secondarily dormant and enter the soil seed bank. The size of a soil seed bank and emerging rape seed volunteers after the seed fall can be influenced by certain tillage operations (PEKRUN *et al.* 1998a, PEKRUN *et al.* 1998b, GRUBER *et al.* 2004). In principle, immediate incorporation of the seeds into the soil leads to a higher seed potential than leaving the soil untilled for a while, whereas pure zero tillage systems do not prevent the building up of a soil seed bank but in contrary lead to considerable amounts of volunteer plants (SIMARD *et al.* 2002, GRUBER *et al.* 2004).

While impacts of post-harvest operations on the soil seed bank and volunteers are described, less information is available on the influence of the genotype though an effect was proved to exist (PEKRUN *et al.* 1997, GRUBER *et al.* 2002, 2003a, MOMOH *et al.* 2002). Nevertheless, these results mainly derive from laboratory experiments and do not describe the reaction of cultivars under field conditions.

The objective of this study was to examine genotypic differences between four oilseed rape cultivars in the capacity of seed persistence, and the following emergence and growth of rape seed volunteers under field conditions. On that basis the connection between persistence capacity at the very beginning and the resulting number of flowering volunteers at the end of the life cycle was described. The results on seed persistence in the field were compared to laboratory experiments on secondary dormancy with the same seed material in parallel. Two cultivars used were near-isogenic to GM cultivars to transfer the results also on transgenic plants. Low persistent cultivars, if detected, could be used for future breeding work in principle. Choosing suitable genotypes and performing suitable post-harvest tillage operations would offer a chance to minimise gene dispersal via volunteers by adding up both effects.

Materials and methods

The field experiments were set up by seeding winter oilseed rape on August 29th 2001 on the Experimental Station Ihinger Hof of the University of Hohenheim, south west Germany (N 48° 44' / E 8° 55', altitude 450 m a.s.l., 689 mm mean annual precipitation, 8.0 °C mean annual temperature), on a loamy soil. The oilseed rape cultivars Liberator, Artus, Bristol and Capitol were grown in a block design with four replications in plots sized 10 x 10 m. Liberator and Artus are near-isogenic to the genetically modified, herbicide tolerant cultivars Lilly^{LL} and Avalon^{LL}, and were chosen for the experiment to enable a transfer of the results to their transgenic counterparts.

Directly before harvest on July 25th 2002, cloths sized 50 x 70 cm were placed under the standing crop by cautiously cutting the stems shortly above the soil and putting the clothes between stubs and stems to catch and determine seed losses. In each plot the area examined in total matched three times the full cutting width of the combine harvester. A 14-days germination test in darkness at 20 °C determined the viability of the seeds sampled on the cloths.

Immediately after harvest, stubble tillage was performed by a Dyna-Drive at 8 cm on July 26th. The following crop winter wheat was sown on December 20th 2002 after primary tillage by plough in a cultivation depth of 20 cm on October 16th. Shortly before primary tillage all oilseed rape seedlings having emerged were counted and destroyed by a non-selective herbicide afterwards. The omission of any weed control further on in winter wheat should enable a growth of maximal numbers of rape volunteers.

The soil seed bank was determined on February 11th by taking 40 cores per plot with an 11 x 15 mm auger in three layers up to 30 cm depth. Oilseed rape seeds were washed out from the soil using a 4 mm and a 1 mm sieve and counted afterwards. All obviously intact seeds were defined as persistent. Under the dry conditions of spring 2003 first emergence of rapeseed volunteers was observed and determined at the end of April. The survey of flowering volunteers took place on May 29th, June 10th, June 23rd and July 1st 2003. For assessment of the competitive pressure the number of ear-bearing stalks of the main crop winter wheat was recorded on 1 m² in each plot.

Secondary dormancy was induced in seeds from harvest losses of each cultivar by imbibition of 12 x 100 seeds per Petri dish in 8 ml polyethylene glycol solution at an osmotic pressure of pF 4,2 (permanent wilting point). After a 14 days induction in darkness at 20 °C all seeds were transferred on Petri dishes with deionised water for another 14 days at light and temperature conditions retained unchanged. Dormant seeds remained ungerminated in this period and were stimulated to germinate afterwards by alternating temperature and light conditions (3 °C/30 °C; darkness/light; 12h/12h) to test their viability.

The statistical analysis of the data was calculated by the mixed model procedure in SAS. Data were transformed if necessary to meet the requirements of the analysis of variance.

Results

The yield of all cultivars ranged from 3.3 to 3.9 t ha⁻¹ (Tab. 1). Between about 3,000 and 3,500 seeds m⁻² were lost during the harvest, according to 3.4 to 4.1 % of the yield.

Tab. 1: Yield (t ha⁻¹) and harvest losses (seeds m⁻² and % of yield) of the oilseed rape cultivars Artus, Liberator, Bristol and Capitol harvested 2002; s.e.m. harvest losses (seeds m⁻²): 675

Tab. 1: *Ertrag (t ha⁻¹) und Ernteverluste (Samen m⁻² und % des Ertrags) der Winterrapessorten Artus, Liberator, Bristol und Capitol, Ernte 2002; Standardfehler des Mittelwerts für Ernteverluste (Samen m⁻²): 675*

Cultivar	Yield t ha ⁻¹ (9 % water content)	Harvest losses (mean, seeds m ⁻²)	Harvest losses (% of yield)
Artus	3.38	3,020	3.7
Liberator	3.29	3,246	3.7
Bristol	3.33	3,521	3.4
Capitol	3.92	3,181	4.1

The following surveys of the seed outcome showed the majority in that fraction of seeds was not found at all (Fig. 1). Between 60 and 75 % of all seeds that had dropped to the soil could not be recorded in any survey.

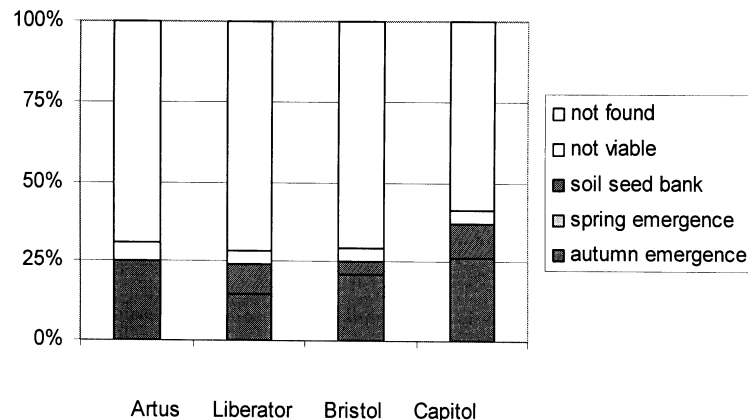


Fig. 1: Outcome of harvest seed losses from the oilseed rape cultivars Artus, Liberator, Bristol and Capitol in % of total losses m^{-2} of each cultivar

Abb. 1: Verbleib von Samen aus Ernteverlusten der Winterrapsorten Artus, Liberator, Bristol und Capitol in % der durchschnittlichen Gesamtverluste je Sorte

This number includes between 4 and 6 % of seeds that were not viable in the germination test. Autumn emergence was 15 % (Liberator) up to 25 % (Capitol) of all seeds, whereas spring emergence was lower than 0.01 %, or 0.22 plants m^{-2} . Maximal 11 % of all seeds lost were found to be persistent in the soil seed bank about half a year after harvest. Comparing the cultivars, most seeds entered the soil seed bank—or stayed in the soil seed bank—from Capitol and Liberator with 10.7 and 9.3 % of the seed lost, whereas Bristol had 4.3 % persistent seeds and Artus built up no soil seed bank (Tab. 2).

Tab. 2: Soil seed bank after harvest losses of the oilseed rape cultivars Artus, Liberator, Bristol and Capitol under the following crop winter wheat, seven months after harvest of the rape crop; data absolute (seeds m^{-2}), arc-sine-root transformed and in % of the harvest losses; s.e.m. transformed data: 0.08; no significant differences between data with same letters (Satterthwaite's formula, $\alpha = 5\%$)

Tab. 2: Bodensamenbank nach Ernteverlusten der Winterrapsorten Artus, Liberator, Bristol und Capitol unter der Folgefrucht Winterweizen, sieben Monate nach der Rapserte; Werte absolut (Samen m^{-2}), Arcus-Sinus-Wurzel-transformiert und in % der Ernteverluste je Sorte; Standardfehler des Mittelwerts (transformiert: 0,08); keine signifikanten Unterschiede zwischen Werten mit gleichem Buchstaben (Satterthwaite's Test, $\alpha = 5\%$)

	Cultivar			
	Artus	Liberator	Bristol	Capitol
Soil seed bank (seeds m^{-2} , absolute)	0	302	151	340
Soil seed bank (seeds m^{-2} , transformed)	0.01 ^b	0.27 ^a	0.15 ^{ab}	0.28 ^a
Soil seed bank (% of harvest losses)	0.0	9.3	4.3	10.7

In absolute number 340 seeds of Capitol, 300 of Liberator, 150 of Bristol and none of Artus persisted in soil. Only Artus differed significantly from other cultivars. The largest proportion of seeds occurred in the soil layer 10 to 20 cm (Tab. 3). Particularly Capitol seeds were also found in relatively high numbers in the upper layer, and a few Liberator seeds also occurred in the layer 20–30 cm depth.

Tab. 3: Distribution of rape seeds from harvest losses in different soil depths, seven months after immediate stubble tillage and primary tillage with plough

Tab. 3: *Verteilung von Rapssamen aus Ernteverlusten in verschiedenen Bodentiefen, sieben Monate nach sofortiger Stoppelbearbeitung und Grundbodenbearbeitung mit Pflug*

Soil layer	Cultivar			
	Artus	Liberator	Bristol	Capitol
0-10 cm	0	0	38	113
10-20 cm	0	227	113	227
20-30 cm	0	76	0	0

Volunteers emerged and shoot during the whole vegetation period from April 2003 until the harvest of winter wheat (Fig. 2). The flowering of volunteers started in June when regularly sown rape crop on adjacent field still had finished flowering. On the first survey on May 29th volunteers were almost flowering.

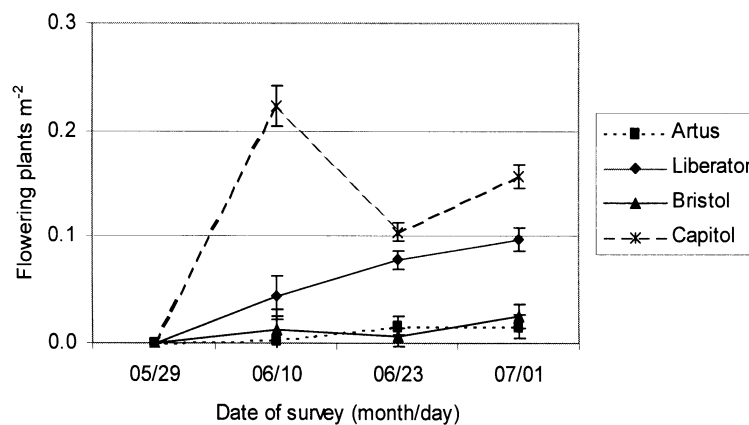


Fig. 2: Volunteer plants (plants m⁻²) of the oilseed rape cultivars Artus, Liberator, Bristol and Capitol flowering in winter wheat following the harvest of rape crop; bars: s.e.m.

Abb. 2: *Blühende Durchwuchsrapspflanzen (Pflanzen m⁻²) der Winterrapssorten Artus, Liberator, Bristol und Capitol in Winterweizen, im Folgejahr auf die Ernte der Vorfrucht Raps. Fehlerbalken: Standardfehler des Mittelwerts*

One week later, volunteers of all cultivars started flowering with up to 0.2 plants m⁻² (Capitol). The number of flowering plants at the following surveys clearly increased in Liberator, and slightly in Artus and Bristol, whereas it decreased in Capitol temporarily. In general, most flowering volunteers occurred in Capitol. Volunteers also emerged from the cultivar Artus, although no soil seed bank was observed. At the last survey volunteers were flowering from 0.02 up to 0.16 plants m⁻². The solitaire exposition of the rapeseed volunteers resulted in a high pressure of pests and diseases that heavily damaged buds, pods and

156 GRUBER, PEKRUN, CLAUPEIN

newly produced seeds. If any, fully ripened seeds were mostly produced from that plants and insertions that flowered on the surveys on June 10th and 23rd.

The plant density of the following crop winter wheat was between 491 (Liberator) and 595 (Capitol) ear-bearing stalks m⁻² (Tab. 4).

Tab. 4: Ear bearing stalks m⁻² of winter wheat following the rape crop cultivars Artus, Liberator, Bristol and Capitol

Tab. 4: *Ährentragende Halme m⁻² in Winterweizen als Folgefrucht nach den Wintererbsensorten Artus, Liberator, Bristol und Capitol*

Ear-bearing stalks of winter wheat (m ⁻²)				
Previous rape crop cultivar	Artus	Liberator	Bristol	Capitol
Mean	549	491	572	595
Standard deviation	98	168	180	130

Comparing the dormancy levels obtained from laboratory experiments Capitol was the most dormant cultivar with 67 % dormant seeds/viable seeds, and Artus with 19 % dormant seeds/viable seeds the least dormant one of the cultivars tested (Tab. 5).

Tab. 5: Dormant seeds/viable seeds (%) from the rape crop cultivars Artus, Liberator, Bristol and Capitol tested in laboratory after induction of dormancy

Tab. 5: *Dormante/lebensfähige Samen (%) der Wintererbsensorten Artus, Liberator, Bristol und Capitol im Laborversuch nach Dormanzinduktion*

Dormant seeds/viable seeds (%)				
Cultivar	Artus	Liberator	Bristol	Capitol
Mean (absolute)	18.9	48.5	28.2	66.6
S.e.m. (absolute)	1.6	2.1	1.9	1.9
Mean (transformed)	0.45 ^d	0.77 ^b	0.55 ^c	0.95 ^a
S.e.m. transformed)	0.02	0.02	0.02	0.02

Discussion

Though the cultivars emerged in different amounts in autumn, this capacity does not seem to be related to the number of seeds entering the soil seed bank, since Artus and Capitol, both cultivars with high autumn emergence, produced as well the lowest as the highest soil seed bank among the cultivars tested. The majority of seeds that vanished without being recorded in any survey may have been subject to predation (PEKRUN *et al.* 2003), fatal germination, dying off by drought, seedling competition or pre- and post-emergence damping off of seedlings. Since the studies of GRUBER *et al.* (2003b, 2004) showed similar results even with four different tillage treatments, the effect cannot only be attributed to that single, particular tillage system used in this experiment. In fact, it seems to be a basic reaction pattern that may vary in a certain range with the tillage system or cultivar. Neither plants emerged in autumn that can be controlled chemically or mechanically quite well nor the fraction of unrecorded losses would contribute to gene dispersal. However, the genetic information and properties of seeds can be well preserved and transferred by the soil seed bank.

The partly significant differences in the amount of the soil seed bank between cultivars indicate that seed persistence is influenced by genotype. A genotypic effect on seed dormancy of oilseed rape in laboratory was already described by PEKRUN *et al.* (1997), MOMOH *et al.* (2002) and GRUBER *et al.* (2002, 2003a), who assumed consequences on seed persistence in field. The current study at the first time proved

those results in corresponding field and laboratory experiments. The ranking of cultivars in the amount of the soil seed bank is the same as in secondary dormancy obtained from laboratory experiments: high dormant cultivars in laboratory persisted with high numbers of seeds in the soil seed bank and vice versa. Therefore, the laboratory methods can be used well for identifying low persistent cultivars.

Except Artus without any seeds found again, the soil seed bank was a fifth to a sixth of the dormancy level determined in laboratory from the cultivars tested. Since many different impacts can diminish the number of seeds or seedlings under unpredictable and varying environmental conditions in field, a difference to laboratory experiments with definite and constant conditions is very likely. Especially the clearly longer period during that seeds could germinate in field compared to the standardised 14 days germination period in laboratory could have led to a lower persistence level in the field.

Spring emergence was much lower than autumn emergence and took place over the whole vegetation period until harvest of winter wheat. Maybe different requirements of cultivars for stratification in general could enhance or diminish the number of volunteers emerging in spring. In any case gene dispersal by pollen is possible from rape seed volunteers in following winter crops as in summer crops if no weed control is performed.

Contrary to the study of GRUBER *et al.* (2004) who observed volunteers flowering at the same time as adjacent rape crops in 2002, no overlapping of flowering periods took place in the experimental year 2003. Nevertheless, due to drought in April and May 2003 and a relatively humid June, post-shooting plants in regularly grown rape crops could act as potential crossing partners with volunteers.

A clear genotypic influence was observed on the number of flowering volunteers that corresponds well with the size of the soil seed bank in each cultivar. High numbers of flowering volunteers can consequently be expected in cultivars that build up a large soil seed bank in autumn, except other factors like competition ability or susceptibility to diseases are involved additionally. Volunteers also emerged in Artus plots, though no soil seed bank was recorded. Probably the number of persistent seeds was too small to be completely recorded by the soil sampling methods.

Ploughing as performed in the experiment generally shifts seeds from upper soil layers into deeper layers (COUSENS and MOSS 1990), from where emergence of rape seeds does not take place (KOHOUT and SOUKUP 1996, COLBACH *et al.* 2001). Since many seeds of Capitol were also found in the upper soil layer the comparatively high volunteer emergence of Capitol seeds can partially be a result of the position of seeds in the soil.

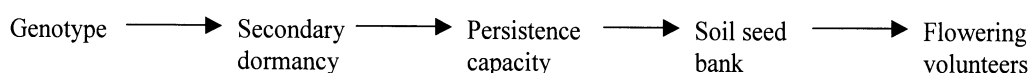
It could be supposed that the number of volunteers in spring is related to the plant density of the competing winter wheat as described in the model of COLBACH *et al.* (2001). However, since the highest number of ear-bearing stalks occurred in that plots where the highest number of volunteers was growing (Capitol), the number of rape volunteers cannot be assumed to be due to the competitive pressure by the population density of winter wheat but actually due to the genotype. It has to be considered in this context whether hybrid cultivars like Artus segregate in less conformer and partially weaker volunteer plants with lower competition ability in the F₂ offspring.

Volunteers emerging in a following oilseed rape crop would emerge undetected and would not be damaged by pests and diseases at such an extent as it happened in cereals in this study. A normal flowering and production of vital seeds would be the consequence that might lead to a higher chance of gene dispersal, to a new contribution to the soil seed bank and to reduced varietal purity of the harvested crop. As ROLLER *et al.* (2003) describe a rapid decline in the number of viable seeds in the soil seed bank up to about 1 % of the initial number of seed losses within two years, merely a small number of volunteers can be supposed emerging in a following rape crop in a common three years rotation. Nevertheless, if the reason for reducing volunteers is not the agricultural disadvantage but the risk of gene dispersal, even a very few flowering and fruiting rapeseed volunteers within a rape crop can be supposed to be undesired. The economical damage threshold may be consequently lower in case of growing GM oilseed rape.

Resuming all results, the hypotheses set up were proved as following:

- Differences in seed persistence exist between oilseed rape cultivars under field conditions.
- Differences between cultivars can also be evaluated by laboratory experiments.
- Cultivars with high secondary dormancy in laboratory persist in higher proportion under field conditions and vice versa.
- High dormant/high persistent cultivars result in a higher number of flowering volunteers in the following winter wheat than low dormant/low persistent cultivars do.

Without consideration of environmental influences the chain of effects can be described as:



The crucial factor for volunteer emergence and growth from seed losses was the capability to build up a soil seed bank. In field and laboratory this factor was proved to be dependent on the genotype as shown by the comparison of a selection of the rape seed assortment. Other factors as competition capacity, resistance to pests and diseases or distribution of seeds in the soil are supposed to be of minor influence on volunteer growth. Since laboratory experiments result in similar relations between the cultivars as the field experiments, the laboratory method consequently can be used to detect low dormant and low persistent genotypes

If the interest in reducing oil seed rape volunteers increases further due to the introduction of genetically modified cultivars, ideotyping of low persistent genotypes may give a perspective to the co-existence of GM and conventional or organic farming.

References

- COLBACH, N., C. CLERMONT-DAUPHIN, J.M. MEYNARD: Genesys: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **83**, 235–253, 2001.
- COUSENS, R., S.R. MOSS: A model of the effects of cultivation on the vertical distribution of weed seeds within the soil. *Weed Research* **30**, 61–70, 1990.
- GRUBER, S., C. PEKRUN, W. CLAUPEIN: Variation of secondary dormancy in genetically modified and conventionally bred oilseed rape. VII. Congress of the European Society of Agronomy, Cordoba, Spain, 15–18 July 2002, 187–188, 2002.
- GRUBER, S., C. PEKRUN, W. CLAUPEIN: Seed persistence of genetically modified and conventionally bred oilseed rape in laboratory and burial experiments. Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress, Copenhagen, 876–878, 2003a.
- GRUBER, S., C. PEKRUN, W. CLAUPEIN: Life cycle and gene dispersal of oilseed rape volunteers (*Brassica napus* L.). Proceedings of the BCPC International Congress – Crop Science and Technology, Glasgow, 1093–1098, 2003b.
- GRUBER, S., C. PEKRUN, W. CLAUPEIN: Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy*, 2004 in press.
- GULDEN, R.H., S.J. SHIRTLIFFE, A.G. THOMAS: Harvest losses of canola (*Brassica napus*) cause large seedbank inputs. *Weed Science* **51**, 83–86, 2003.

- KOHOUT, V., J. SOUKUP: Problematik von Winterraps (*Brassica napus* L.) als Unkrautpflanze und einige Möglichkeiten ihrer Lösung. *Journal of Plant Diseases and Protection*, Special issue XV, 291–293, 1996.
- LUTMAN, P.J.W.: The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Aspects of Applied Biology* **35**, 29–36, 1993.
- MOMOH, E.J.J., W.J. ZHOU, B. KRISTIANSSON: Variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape genotypes under conditions of stress. *Weed Research* **42**, 446–455, 2002.
- PEKRUN, C., T.C. POTTER, P.J.W. LUTMAN: Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. *Proceedings of the 1997 Brighton Crop Protection Conference – Weeds*, 243–248, 1997.
- PEKRUN, C., H. RIPPFEL, A. ALBERTINI, P.J.W. LUTMAN, W. CLAUPEIN: Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Ausbildung einer Samenbank bei Raps – Ergebnisse von sechs Standorten in England und einem in Österreich. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **11**, 53–54, 1998a.
- PEKRUN, C., J.D.J. HEWITT, P.J.W. LUTMAN: Cultural control of volunteer oilseed rape. *Journal of Agricultural Science* **130**, 155–163, 1998b.
- PEKRUN, C., W. CLAUPEIN: Zu den Ausfallverlusten von Raps sowie der Verteilung von Rapssamen und -stroh nach der Ernte. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **14**, 191–192, 2002.
- PEKRUN, C., A. EL TITI, W. CLAUPEIN: Implications of soil tillage for crop and weed seeds. In: El Titi, A., (Ed.), *Soil Tillage in Agroecosystems*. CRC Press LLC, Boca Raton, FL., USA, 115–146, 2003.
- ROLLER, A., H. BEISMANN, H. ALBRECHT: Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape – first observations under practically relevant conditions in South Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection*, XVIII (Special issue), 255–260, 2002.
- ROLLER, A., H. BEISMANN, H. ALBRECHT: The influence of soil cultivation on the seedbank of GM-herbicide tolerant and conventional oilseed rape. *Aspects of Applied Biology* **69**, 131–135, 2003.
- SIMARD, M.J., A. LÉGÈRE, D. PAGEAU, J. LAJEUNESSE, S.I. WARWICK: The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Québec cropping systems. *Weed Technology* **16**, 433–439, 2002.

5 Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage



Available online at www.sciencedirect.com

SCIENCE @ DIRECT®

Europ. J. Agronomy 20 (2004) 351–361

European
Journal of
Agronomy

www.elsevier.com/locate/eja

Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage

S. Gruber*, C. Pekrun, W. Claupein

Institut für Pflanzenbau und Grünland, Universität Hohenheim, Fruwirthstr. 23, 70599 Stuttgart, Germany

Received 8 January 2003; received in revised form 17 April 2003; accepted 17 April 2003

Abstract

Volunteer plants of oilseed rape (*Brassica napus* L.) from persistent seeds in soil can affect subsequent crops. Apart from the agricultural disadvantages, the environment and the marketing of the seeds may also be affected, particularly if plants with special ingredients or genetically modified (gm) plants are grown. In order to investigate the influence of soil cultivation and genotype on seed persistence and gene flow via volunteers, a field experiment was set up testing four tillage treatments and two cultivars in a split-plot design. The cultivars tested were near-isogenic to two gm cultivars. To simulate harvesting losses, 10 000 seeds m^{-2} were broadcast on a soil in July. The subsequent tillage treatments were combinations of immediate or delayed stubble tillage by a rotary tiller, primary tillage with plough or cultivator, or zero tillage. Over the following year, the fate of the seeds was determined. Immediate stubble tillage with following cultivator or plough resulted in 586 resp. 246 seeds m^{-2} in the soil seed bank. After delayed stubble tillage with following plough, 76 seeds m^{-2} were found, and no soil seed bank was built up in the zero tillage treatment. Nevertheless, in the zero tillage treatment, several robust volunteer plants survived the herbicide application before the direct drilling in autumn until following spring. In the zero tillage treatment and in the cultivator treatment, 0.19 volunteers m^{-2} resp. 0.06 volunteers m^{-2} flowered simultaneously to ordinarily sown oilseed rape in the following crop of winter wheat and produced 73 resp. 18 seeds m^{-2} . Delayed stubble tillage reduced the risk of gene escape via the soil seed bank, while zero tillage resulted in the highest risk of gene escape by pollen and by production of a new generation of seeds. In terms of a labelling threshold for gm food this number of seeds would be below the threshold of 0.9% of transgenic parts in conventionally bred food or feed.

© 2003 Elsevier B.V. All rights reserved.

Keywords: *Brassica napus* L.; Volunteers; Tillage; Gene escape; Seed production; Soil seed bank

1. Introduction

Oilseed rape is a relatively young crop and still possesses a number of feral plant characteristics. One

of these characteristics is the capacity of oilseed rape seeds to persist in the soil for up to 10 years (Schlink, 1998) by acquiring secondary dormancy, as pointed out in many studies e.g. as reviewed by Pekrun et al. (1998b). Moreover, a second wild type characteristic, precocious seed shedding before or during harvest, often leads to high harvest losses. These losses can amount up to 1.5 t ha^{-1} (Pekrun et al.,

* Corresponding author. Tel.: +49-711-459-2380;
fax: +49-711-459-4344.

E-mail address: grubersf@uni-hohenheim.de (S. Gruber).

1996) resp. 11% overall losses of the yield (direct cutting, Price et al., 1996). Lutman (1993) reported losses reaching 10 000 seeds m^{-2} .

The combination of high seed losses and secondary dormancy often results in volunteer plants in subsequent crops—particularly in rotations with a high proportion of oilseed rape, when the seeds can accumulate in the soil and build up a big soil seed bank.

Volunteers can generally be reduced quite effectively in subsequent crops by herbicides. However, emerging in ordinarily grown rape crop volunteers can result in problems, such as competition, increased plant density, increased crop rotation diseases, or deterioration of the harvest in the case of special seed qualities. Besides these conventional problems in crop production, growing genetically modified (gm) cultivars entails a further set of problems: the volunteer offspring can mix with the harvested rape crops years later ('gene flow in time') at the same site. In case of herbicide tolerant cultivars, a resistant volunteer population can be built up which cannot easily be controlled by the full herbicide spectrum. Roller et al. (2002) assessed the current persistence of gm oilseed rape in the seed bank at some sites in Germany and reported transgenic seeds in the soil 2 years after harvest.

Additionally, an established volunteer plant population is a long-term pollen source which may affect neighbored rape crops even years after the first, regular cultivation of gm crops ('gene flow in space'). Numerous studies have researched the capacity for outcrossing from gm oilseed rape pollen. Downey (1999) observed outcrossing rates in *Brassica napus* from 0.02 to 2.1% depending on the distance to the pollen source and the plot size. These results are generally confirmed by Staniland et al. (2000); Götz and Ammer (2000); Timmons et al. (1995) for transgenic material, whereas in conventionally bred oilseed rape mean outcrossing rates from 20 to 40% have been found (Becker et al., 1992; Hackenberg and Köhler, 1996; Rakow and Woods, 1987).

The European Union is still discussing a labelling threshold for transgenic parts in food and feed of 0.9%. At any rate, it is reasonable to assume that only a very small proportion of transgenic seed will be tolerated within conventionally bred crops. Consequently, a soil seed bank of dormant, gm seeds is an unpredictable risk for subsequent crops as long as the mechanisms of seed bank dynamics are inadequately understood.

Laboratory and field experiments have shown that the genotype may have an impact on rape seed persistence (Pekrun et al., 1997; López-Granados and Lutman, 1998; Gruber et al., 2002). Growing or breeding oilseed rape cultivars with reduced persistence qualities would decrease the risk of all the problems mentioned above. Another approach to minimise the potential of seed persistence implies soil cultivation. As described by several authors (Bowerman, 1993; Pekrun et al., 1998a,c; Pekrun and Claupein, 1999; Légère et al., 2001) the soil seed bank and the number of subsequent volunteers of rape can be affected by the time and type of tillage. According to these studies an immediate, deep incorporation of seeds into the soil supports the building up of a soil seed bank in most investigated agricultural systems with winter rape in general, though Canola volunteers are most present in zero tillage systems in Canada (Légère et al., 2001). Differences in burial depth, water supply, gaseous, light and temperature conditions affected by tillage are the main reasons that may result in a particular onset of seed persistence or germination depending on the tillage system (Pekrun et al., 2003). In several modelling studies about weed or volunteer emergence, tillage and the resulting specific soil conditions is an important factor (Mohler, 1993; Pekrun et al., 1999; Colbach et al., 2001). However, the explicit fate of a whole life cycle of shed seeds is not yet reported. Therefore, further detailed information is required to validate and to improve the current hypotheses, especially the influence of deep soil conversion and delay of the first cultivation after harvest on seed persistence.

The aim of this study was to investigate the influence of soil tillage, i.e. stubble and primary tillage, and oilseed rape genotype on the current and future volunteer oilseed rape population. As a complement to previous studies on rapeseed volunteers (Pekrun et al., 1998a,c) a special emphasis was attributed to the whole life cycle of the dispersed seeds, particularly including the seeds newly produced by the volunteers themselves.

2. Materials and methods

The experimental site was located at the Experimental Station 'Ihinger Hof' of the University of Hohenheim, south-west Germany on a loamy soil, with

a mean annual precipitation of 689 mm and mean annual temperature of 8.0 °C.

Seeds of the two winter oilseed rape cultivars Liberator (TSM 4.2 g, viability 81.3%) and Artus (TSM 4.6 g, viability 96.5%) were disseminated on the stubble of precociously harvested winter wheat on July 26th 2001. The seeds have not been broadcast on an oil seed stubble consciously to obtain a spatially and quantitatively uniform distribution of seeds. The cultivars used are near-isogenic to the gm, herbicide (Basta)-tolerant cultivars Lilly^{LL} (Liberator) and Avalon^{LL} (Artus).

From the hybrid cultivars Artus harvest material was used which was harvested in 2001, whereas the Liberator seeds were grown in 1998. Seed density was 10 000 seeds m⁻² in both cultivars, which represented an observed upper limit of seed losses.

The experiment was set up as a split-plot design with the main factor 'tillage' and the second factor 'cultivar'. There were four replicates, using a plot size of 4 × 10 m.

As shown in Table 1, the treatments were combinations of stubble tillage with differing date and intensity of tillage. Two common methods of primary cultivation and a no tillage treatment were chosen to assess the influence of cultivation depths, and two stubble tillage treatments at different dates were chosen to assess the time factor of the first soil movement after harvest on seed persistence. These treatments cover the spectrum of agricultural practice. The following crop was winter wheat (cultivar Transit, 400 seeds m⁻²).

There were two tillage treatments where primary tillage was performed by a plough and one where a cultivator was used (T 1–3). A fourth treatment without any preceding soil movement before sowing was

performed by direct drilling (T 4). In one of the plough treatments (T 1) and in the cultivator treatment (T 3), stubble tillage was done immediately after broadcasting the seeds, while the soil remained undisturbed for 4 weeks until stubble breaking in the second plough treatment (T 2).

Seeds were spread over the soil surface by a seed drill without using the seed shares. At the time of both stubble tillage dates, i.e. immediately after broadcasting (T 1 and 3) and 4 weeks later (T 2), the gravimetric soil moisture based on dry mass was determined in the layers 0–10, 10–20 and 20–30 cm depth. Therefore, three soil samples were taken per plot by an 11 × 15 mm auger. Shortly before each tillage treatment resp. the sowing, all emerged oilseed rape seedlings were counted on an area of 0.25 m² per plot (a total of 10 random samples). Afterwards, all plots were treated with the non-selective herbicide Glyphosate (October 19th, 5 l ha⁻¹) before the soil cultivation and sowing of winter wheat was performed (October 31st).

Treatments 1 and 2 were ploughed up to a depth of 25 cm, and treatment 3 was cultivated up to a depth of 15 cm. Before sowing winter wheat, the seedbed was prepared by a disc harrow and a rotary harrow. The plant density of the winter wheat was determined in late autumn by counting two plant rows resulting in one square meter. Shortly before harvest also the number of ear-bearing stalks of winter wheat was determined. Neither chemical nor mechanical weed control was carried out in the winter wheat. In springtime the emergence of rape seedlings was determined in all plots once again. Afterwards (April 4th 2002), soil samples were taken by an 11 × 15 mm auger in three layers up to 30 cm to determine the amount of

Table 1

Experimental design; main factor tillage: tillage implements, cultivation depth and date of cultivation of the different tillage treatments (T) as combined in the experiment; second factor cultivar

Main factor 'tillage'			
(T)	Stubble tillage	Date of stubble tillage after broadcasting seeds	Type and date of primary soil cultivation
T 1	Rotary tiller, 10 cm	Immediately (07/26/2002)	Plough 25 cm (10/30/2002)
T 2	Rotary tiller, 10 cm	4 weeks delay (08/22/2002)	Plough 25 cm (10/30/2002)
T 3	Rotary tiller, 10 cm	Immediately (07/26/2002)	Cultivator 15 cm (10/30/2002)
T 4	None (zero tillage)	–	Direct drilling (10/31/2002)
Second factor 'cultivar'			
Cultivar 1	Liberator		
Cultivar 2	Artus		

remaining rapeseed in the soil seed bank. Forty cores were taken in each plot. Seeds were washed out from the soil by sieving using two sieves with a mesh width of 4 and 1 mm, and counted afterwards. All obviously intact, non-germinated and firm seeds with a yellow embryo were counted and defined as 'persistent'.

At the time when ordinarily, non-experimentally sown rape in the neighborhood blossomed, all oilseed rape volunteers in the winter wheat that had flowers or flower buds were counted (May 8th 2002).

The number of seeds from pods at their final length and thickness was determined in June (June 18th), and the plants resp. pods were removed from the site. These pods, which probably derived from flowers that had flowered during May, were assumed to be ripe and to be able to shed their seeds in the time before the winter wheat was harvested. The seeds were counted in that early stage to avoid the risk of damage or loss during ripening. At two following dates (July 9th, August 2nd), the number of flowering volunteers was counted again and all fully ripened pods were removed and the seeds counted. A subsequent germination test of the obviously mature seeds should determine the germinability of the seeds produced. Therefore, the seeds were spread on a plastic Petri dish with a

double layer of filter paper with deionised water and allowed to germinate for 7 days in darkness at 20 °C.

The statistical analysis was made by using the computer programme SAS (SAS Institute Inc., Cary/North Carolina). The statistical procedure itself was based on the general linear model for a split plot design, and the mixed model formula for a comparison of means. Where necessary, a logarithmic transformation was applied to fulfil the requirements for an analysis of variance.

3. Results

3.1. Plant emergence and soil seed bank

Significant differences were observed between the tillage treatments when emergence was quantified in autumn before each soil movement (Table 2). The majority of seedlings had germinated in the ploughed plots with immediate stubble tillage (T 1) with a mean of 1906 seedlings m^{-2} , the fewest in the direct drilling plots with 920 seedlings m^{-2} (T 4). Stubble tillage delay for 4 weeks and ploughing (T 2) resulted in intermediate values of 1232 m^{-2} , and immediate stubble

Table 2

Emerged volunteer oilseed rape plants m^{-2} observed in autumn of the same year after harvest losses (sum of counting from July until October) and in following spring, and soil seed bank as effect of tillage

Treatment	T 1 Stubble tillage immediately, plough		T 2 Stubble tillage delayed, plough		T 3 Stubble tillage immediately, cultivator		T 4 Zero tillage	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Cultivar								
Plants m^{-2} autumn 2001								
[Mean]	1227 ^B [1906] ^A	2585 ^A	1199 ^A [1232] ^{B,C}	1264 ^A	1243 ^B [1577] ^{A,B}	1910 ^A	714 ^A [920] ^C	1125 ^A
Plants m^{-2} spring 2002								
[Mean]	0.0 [0.5]	1.0	0.0 [0.0]	0.0	0.5 [4.8]	9.0	0.0 [0.4]	0.9
(Transformed)	-2.30 ^A	-0.44 ^B	-2.30 ^A	-2.30 ^A	-1.54 ^B	1.97 ^A	-2.30 ^B	-0.11 ^A
[Mean]	[-1.37] ^B		[-2.30] ^B		[0.21] ^A		[-1.21] ^B	
Seeds m^{-2} spring 2002								
[Mean]	76 ^A [246] ^{A,B}	416 ^A	0 ^A [76] ^B	151 ^A	189 ^B [586] ^A	982 ^A	0 ^A [0] ^B	0 ^A

Cultivar 1 Liberator, 2 Artus. Figures with same letters not significantly different, comparison of cultivars only within the same treatment; where necessary, data transformed ($\ln+0.1$); comparison of treatments: Tukey, $\alpha=0.05$; comparison of cultivars: Satterthwaite's formula, $\alpha=0.05$; autumn emergence: S.E.M. 207 (treatments), 209 (cultivars); spring emergence: S.E.M. transformed 0.37 (treatments), 0.33 (cultivars); spring soil seed bank: S.E.M. 140 (treatments), 139 (cultivars).

tillage and use of cultivator (T 3) in 1577 seedlings m^{-2} . At that time, tillage operations of T 1 and T 3 were identical.

There were no significant differences between the cultivars Liberator and Artus in the treatments T 2 and T 4, whereas significant differences existed between the cultivars in the treatments T 1 and T 3. In spring, the count of seedlings having emerged after the sowing of winter wheat until April 4th (Table 2) resulted in significant differences in emergence between all treatments only in comparison to treatment T 3.

Almost five plants per square meter were found in the cultivator plots on average, about 0.5 in the plough plots with immediate stubble tillage and the no tillage plots, and none in the plots where ploughing and delayed stubble tillage was performed.

All seedlings counted in spring except those from the zero tillage plots still had cotyledons and were at the maximum in development stage 14 according to the BBCH scale (Strauß et al., 1994). The plants on the zero tillage plots were developed at least up to stage 15.

The population density of the following crop winter wheat, recorded on 31st of January 2002, was highest in the plough treatments (225 resp. 228 plants m^{-2}) and lowest in the zero tillage treatment (149 plants m^{-2}) averaged over both cultivars (Fig. 1). The plant density in nearly all treatments was slightly higher in

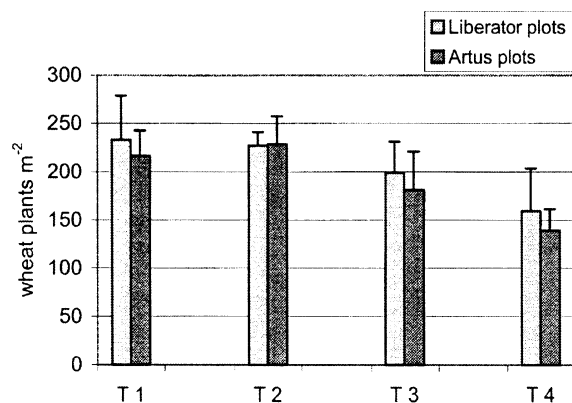


Fig. 1. Population density m^{-2} of the following crop winter wheat in the plots broadcast with the rape seed cultivars Liberator or Artus. T 1: stubble tillage immediately, primary tillage plough; T 2: stubble tillage delayed, primary tillage plough; T 3: stubble tillage immediately, cultivator; T 4: zero tillage. Bars: standard deviation.

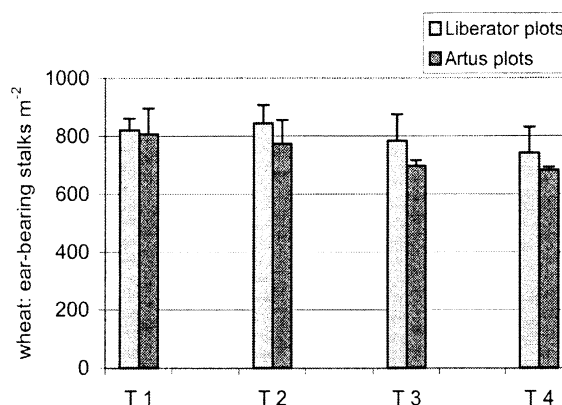


Fig. 2. Ear-bearing stalks m^{-2} of the following crop winter wheat in the plots broadcast with the rape seed cultivars Liberator or Artus. T 1: stubble tillage immediately, primary tillage plough; T 2: stubble tillage delayed, primary tillage plough; T 3: stubble tillage immediately, cultivator; T 4: zero tillage. Bars: standard deviation.

the Liberator plots. The final density of ear-bearing stalks m^{-2} on 2nd of August 2002 also was highest in the ploughed treatments (815 and 810 plants m^{-2}) and lowest with zero tillage (713 m^{-2}) as shown in Fig. 2. In the plots with Liberator volunteers the stalk density stayed higher than in plots with Artus volunteers until harvest.

When soil samples were taken in spring to determine the size of the remaining soil seed bank, the highest seed reserve (586 seeds m^{-2}) was found in the cultivator treatment (Table 2).

The plough treatments T 1 and T 2 resulted in lower amounts of seeds (246 resp. 76 seeds m^{-2}) than the cultivator treatment T 3, and the zero tillage treatment T 4 resulted in no seeds remaining in the soil. The comparison between T 1 and T 2 showed less seeds in the delayed stubble tillage treatment than in the immediate stubble tillage treatment, but the differences were not significant.

The majority of seeds was found in the upper layers (Table 3); only in T 3 with the cultivar Liberator, seeds were found in the layer between 20 and 30 cm at all.

3.2. Persistence factors

When the experiment started, the gravimetric soil moisture content was 12.5% in T 1 and 3 shortly after stubble tillage resp. 13.3% in T 2 and 4 without

Table 3

Distribution of seeds of the oilseed rape cultivars *Liberator* and *Artus* in the soil seed bank in spring in different soil depths (% seeds of all recovered seeds from the soil) as effect of tillage

Treatment (T)	1 Stubble tillage immediately, plough	2 Stubble tillage delayed, plough	3 Stubble tillage immediately, cultivator	4 Zero tillage
Soil depth (cm)				
<i>cv. 1: Liberator</i>				
0–10	100	0	80	0
10–20	0	0	0	0
20–30	0	0	20	0
<i>cv. 2: Artus</i>				
0–10	45	75	100	0
10–20	55	25	0	0
20–30	0	0	0	0

stubble tillage so far (Table 4). Four weeks later, the soil moisture content was 12.3% in T 2 shortly after stubble tillage. Soil moisture was lowest in the deepest layer and highest in the middle layer from 10 to 20 cm depth. The differences, however, between the layers were small.

During the 4 weeks interval between the two stubble tillage dates, the rainfall was altogether 17 mm in 6 days, with a daily minimum of 0.2 mm and a maximum of 15.3 mm.

Only very few intact seeds could be observed on the surface shortly after the dispersal of the seeds in T 2 and T 4 (both without tillage at that time), but a lot of empty seed coats which were not found later.

Adding up all recorded outcomes of the primarily dispersed seeds, including viability, it is apparent that the majority of seeds, 66–84%, perished without leaving any traces recorded in this study (Figs. 3 and 4). These seeds were neither recorded in autumn or spring nor in the soil seed bank. The most losses not recorded were observed in the *Artus* plots with a distinct ten-

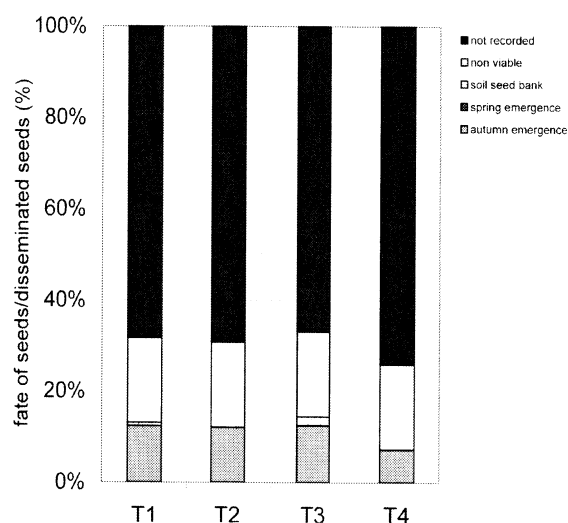


Fig. 3. Fate of broadcast seeds of the rapeseed cultivar *Liberator* as effect of tillage treatments T 1: stubble tillage immediately, primary tillage plough; T 2: stubble tillage delayed, primary tillage plough; T 3: stubble tillage immediately, primary tillage cultivator; T 4: zero tillage.

Table 4

Gravimetric soil moisture content (% dry mass) at two stubble tillage dates, obtained from three soil depths

Soil depth (cm)	Date 1 (07/26)		Date 2 (08/24)
	Treatments 1 and 3	Treatments 2 and 4	Treatments 2 and 4
0–10	12.9	13.2	12.4
10–20	13.1	14.5	12.5
20–30	11.4	12.3	11.9
Mean	12.5	13.3	11.3

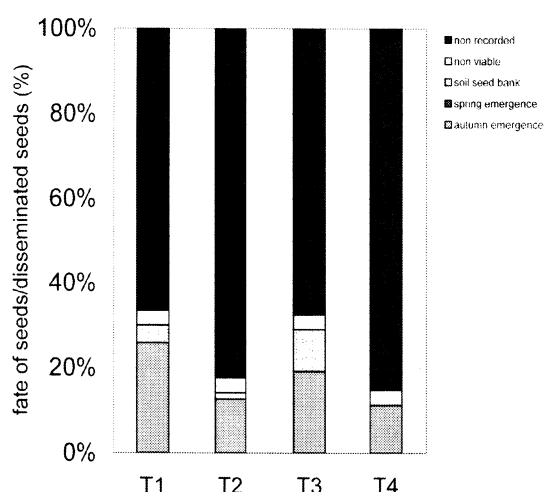


Fig. 4. Fate of broadcast seeds of the rapeseed cultivar Artus as effect of tillage treatments T 1: stubble tillage immediately, primary tillage plough; T 2: stubble tillage delayed, primary tillage plough; T 3: stubble tillage immediately, primary tillage cultivator; T 4: zero tillage.

dependency between the treatments. An additional loss factor was the number of non-viable seeds, since the viability was about 81% in Liberator and 97% in Artus seeds. Depending on the cultivars and the tillage treatment, the disseminated seeds germinated in a range from about 7 to 26% in autumn and up to 0.09% in spring. The cultivar Artus mostly resulted in a higher level of seedlings compared to Liberator in autumn

and in spring, resp. no Liberator seedlings were found at all in treatments 1, 2 and 4 in spring. A maximum of about 10% of the seed input remained in the soil seed bank until April, whereas no soil seed bank was built up at all in the zero tillage treatment. Generally, in all treatments the soil seed bank built up in Artus plots was larger hereby compared to Liberator plots.

3.3. Flowering and reproducing volunteers

During flowering of the ordinarily sown oilseed rape in neighbouring fields, the volunteer plants in some plots of the experiment also started flowering. Flowering plants were observed in this time particularly in T 3 and T 4. In both plough treatments T 1 and T 2 the number of plants m^{-2} was calculated 0 (Table 5), although single plants occurred in these plots.

On average 0.06 plants m^{-2} were found in the cultivator treatment and 0.19 plants m^{-2} in the zero tillage treatment. Regarding the cultivars, more Artus plants than Liberator plants flowered fully, though significant differences were observed only in the zero tillage treatment.

The flowering of single plants was not finished by the end of the flowering period of ordinarily sown oilseed rape but continued until the harvest of winter wheat.

According to the number of flowering plants, the zero tillage treatment yielded the highest number of

Table 5

Number of oilseed rape volunteer plants m^{-2} simultaneously flowering to ordinarily sown oilseed rape and seeds m^{-2} produced by volunteer plants in the first following year after harvest losses as effect of tillage

Treatment	T 1 Stubble tillage immediately, plough		T 2 Stubble tillage delayed, plough		T 3 Stubble tillage immediately, cultivator		T 4 Zero tillage	
	1	2	1	2	1	2	1	2
Flowering plants m^{-2}								
[Mean]	0.00 ^A [0.00] ^B	0.00 ^A	0.00 ^A [0.00] ^B	0.00 ^A	0.03 ^A [0.06] ^B	0.09 ^A	0.05 ^A [0.19] ^A	0.33 ^B
Seed production m^{-2}								
[Mean]	0.0 [2.3]	4.7	0.9 [1.0]	1.0	12.6 [18.4]	24.2	31.2 [72.8]	114.5
(Transformed)	-1.61 ^A	0.10 ^A	-0.44 ^A	-0.84 ^A	1.13 ^A	2.95 ^A	1.89 ^B	4.72 ^A
[Mean]	[0.75] ^B		[0.64] ^B		[2.04] ^{A,B}		[3.31] ^A	

Cultivar 1 Liberator; 2 Artus. Figures with same letters not significantly different, comparison of cultivars only within the same treatment; where necessary, data transformed ($\ln+0.2$); comparison of treatments: Tukey, $\alpha = 0.05$; comparison of cultivars: Satterthwaite's formula, $\alpha = 0.05$; plants: S.E.M. 0.02 (treatment), 0.02 (cultivars); seeds: S.E.M. ($\ln+0.2$) 0.81 (treatments), 0.72 (cultivars).

seeds produced from volunteers (Table 5) followed by the cultivator treatment. The number of seeds produced was the smallest in both plough treatments. About 52% of the seeds collected from the dry, ripened pods were viable, as a germination test showed. In general, all volunteer plants were heavily damaged by fungi and aphids.

4. Discussion

4.1. Plant emergence and soil seed bank

One of the most important questions for the assessment of the population dynamics is the size of the soil seed bank, because these seeds can transfer their genetic information over several vegetation periods. Tillage has often been supposed and proved to be a critical factor for seed persistence (Bowerman, 1993; Lutman, 1993; Pekrun et al., 1996; Dessaint et al., 1997; López-Granados and Lutman, 1998; Pekrun et al., 1998a,c; Pekrun and Claupein, 1999; Benech-Arnold et al., 2000; Roller et al., 2002). In this study, the comparison between the treatment groups 'immediate stubble tillage' (T 1 and 3) and 'delayed or omitted stubble tillage' (T 2 and 4) shows that an immediate stubble tillage enlarges the soil seed bank in general. These results correspond well with numerous studies (Pekrun et al., 1998a,c; Pekrun and Claupein, 1999) which also proved a generally diminishing effect of delayed or zero stubble tillage on seed persistence. In contrast to Pekrun et al. (1998a) who found the highest autumn emergence in delayed/no tillage treatments the recent results point out that the extend of emergence in autumn was lower in the delayed/no stubble tillage treatments than in the immediate stubble tillage treatments. However, even if stubble tillage enhanced germination in the present experiment, the number of emerged seedlings could not effectively reduce the initial seed potential of 10 000 seeds m^{-2} .

The effect of the subsequent primary cultivation can be assessed by the emergence in the following spring and the size of the soil seed bank. The cultivator treatment (T 3) had the highest number of seeds in the soil seed bank in general, and no significant differences could be observed to the corresponding plough treatment (T 1), although the level was clearly lower

there. These results confirm studies on a site in Austria (Pekrun et al., 1998c) where primary tillage by a cultivator after immediate stubble tillage resulted in clearly higher seed persistence than the comparable plough treatment. This trend was also obvious in an experiment on a site in Germany (Pekrun and Claupein, 1999). However, compared to the autumn evaluation, the number of plants that emerged in spring was very small. A substantial cutback of the soil seed bank by spring emergence could not be observed.

In all treatments the largest number of seeds was recovered in the top layer (0–10 cm), opposite to Pekrun et al. (1998a), who found the majority of seeds in the layer of 20–30 cm. In the plough treatments with the cultivator Artus, a remarkably high fraction of seeds was also found in the middle layer. May be the seeds formerly buried by stubble tillage were now transported by the converting plough cultivation even deeper. In the non-inversion cultivator treatment, most seeds seem to stay near to the surface, although a few seeds were found deeper. The absence of any seeds in the zero tillage soil seed bank can easily be explained by the omission of any soil movement. The occurrence of seeds in deeper layers with zero tillage seems to be rather unlikely, and might occur only by the drilling procedure for the following crop, by falling into cracks or soil pores at random or by being moved by animals.

However, a clear interpretation is difficult because of the small number of seeds found at all.

4.2. Persistence factors

The extent of a soil seed bank can be the result of several factors: the number of seeds from seed losses can be reduced by germination due to suitable germination conditions, i.e. soil moisture and temperature. Further diminishing factors may be losses caused by diseases or predators and desiccation or freezing of seedlings. Remaining rape seeds are assumed to be secondarily dormant caused by several environmental factors. It is well known that secondary dormancy can be induced in seeds mainly by water stress and darkness (Pekrun, 1994). In the recent study precipitation was low at least during the first few weeks after seed dispersal. Given an estimated soil compactness of 1.4 $g\ cm^{-3}$ for a loamy soil, the water content in the field was shortly above the permanent wilting point. Accordingly, it seems reasonable to assume that the water

stress factor was present in the experiment. By burying the seeds deeper into the soil layers by tillage operations, the seeds were additionally in darkness. Since imbibed but non-germinated rape seeds on far red light or darkness become light sensitive resp. secondarily dormant (Pekrun, 1994; López-Granados and Lutman, 1998), it is likely that immediate stubble tillage enhanced the soil seed bank that way and vice versa. This supports the theory that early burial can induce secondary dormancy in seed whereas this process does not take place on the same scale in treatments where seeds were exposed to light (Lutman et al., 1994; López-Granados and Lutman, 1998; Pekrun et al., 1998a).

Since the fate of the majority of seeds could be explained neither by emergence nor by persistence, another influence must have been affecting the seeds' survival. Obviously, the most unrecorded losses occur in the treatments with delayed resp. omitted stubble tillage. It may be that predators such as birds removed seeds from the soil surface; this risk would be higher the longer the seeds remain uncovered on the soil surface. Additionally, the existence of empty seed coats shortly after dissemination in the zero tillage and delayed stubble tillage treatment indicates that seeds may have germinated, triggered by the humidity of the slight rainfall or by dew, but perished later when the soil became dry again.

Since genotypic differences were found in the level of secondary dormancy in laboratory experiments (Pekrun et al., 1997; López-Granados and Lutman, 1998; Gruber et al., 2002), genotypic differences should be examined before these results are transferred to field experiments. In the laboratory, the cultivar Liberator resulted in a significantly higher dormancy (57% dormant seeds/viable seeds) than Artus (22% dormant seeds/viable seeds, Gruber et al., 2002). If the level of dormancy is expressed by the size of the soil seed bank, the field experiments should also result in a higher seed potential in the Liberator plots. Actually, the soil seed bank was much lower in Liberator than in Artus. The high proportion of unrecorded losses and of non-viable seeds in Liberator may be a hint that a lot of seeds have perished, probably because of higher seed age. Also, perhaps the lower viability had diminished the number of Liberator records in all data estimates.

4.3. Flowering and reproducing volunteers

A remarkably high number of plants was found in the zero tillage treatment in spring, though no soil seed potential was found there at that time. As the development of the plants indicated, these individuals seemed to have germinated in late autumn or winter. Perhaps the herbicide treatment in autumn before sowing of winter wheat did not completely work and—undisturbed by soil movements—some of the autumn seedlings survived through the winter. A supporting explanation might be that the lower plant density of the subsequent winter wheat in the zero tillage treatment resulted in reduced competitive pressure on germinating or surviving oilseed rape seeds. These results confirm and correspond to the observations in Canada (Légère et al., 2001) where Canola volunteer plants are a common weed in zero tillage systems.

Only in the cultivator treatment (T 3) and the zero tillage treatment (T 4) single plants flowered in the same period as non-experimental oilseed rape in the neighborhood. Accordingly, these plants could have outcrossed with ordinarily sown oilseed rape, an important point for the assessment of gm oilseed rape.

Flowering took place in all plots until the end of the whole growing season of the winter wheat, and by this means permitted potential outcrossing into other cruciferous species flowering during summer. Although the volunteer plants were exposed to a high pressure of diseases and pests, they produced—considering the very low viability compared to ordinary seeds—in T 4 up about half of the usual sowing rate for ordinarily sown rape. If the volunteers had been grown with the same results in a rape stand with a yield of 4 t ha⁻¹ and a TSM of 5 g instead of winter wheat, the contamination of the harvest with seeds of the volunteers would have been a maximum of 0.14% referring to the seeds number. This figure is well below the currently discussed threshold of 0.9% transgenic parts in conventionally bred food or feed. Even if oilseed rape would not be sown as a following crop to oilseed rape, the calculation may give an indication of the dimension told about. On the other hand, in a following rape crop the volunteers would not be as much affected by pests and diseases as in a following winter wheat. A higher production of viable seeds from volunteers and an exceeding of the threshold as consequence could also be possible.

5. Conclusions

The common strategy of weed control by immediate stubble tillage after harvest, in order to invoke high emergence and reduce the weed seed bank, does not seem to work with rape volunteers. The recent results, in fact, suggest that exposure of seeds to the soil surface diminishes their survivability in general. Therefore, a suitable agronomic strategy would be to delay any soil movement after rape seed harvest in order to achieve the smallest possible soil seed bank. An additional reduction of the seed potential can be achieved by ploughing before the sowing of the following crop instead of using a cultivator.

Though zero tillage does not build up a soil seed bank from the first harvest of rape crop, it enables the growth of volunteers from overwintering seedlings that flower at the same time as ordinarily sown rape. If an outcrossing into neighboring rape crops ('gene flow in space') should be prevented at any rate in the following year, a zero tillage system should be avoided. The risk of any gene flow would be lowest according to the conditions of this study by a combination of delayed stubble tillage and a plough in October for primary tillage before sowing winter wheat.

To ensure that no plants survive until next spring, the necessary herbicide application has to be performed accurately. Otherwise, merely a few volunteer plants can act as an undesired pollen source and can produce a second generation of volunteer seeds in all treatments.

Transferring the current results hypothetically to oilseed rape as the following crop instead of winter wheat the risk of contamination by volunteer seeds at a level exceeding the labelling threshold of transgenic proportions would be very low. However, a higher number of produced seeds exceeding the threshold can be assumed under the more appropriate conditions of a following rape crop.

References

- Becker, H.C., Damgaard, C., Karlsson, B., 1992. Environmental variation for outcrossing rates in rapeseed (*Brassica napus*). *Theor. Appl. Genet* 84, 303–306.
- Benech-Arnold, R.L., Sánchez, R.A., Forcella, F., Kruk, B.C., Ghera, C.M., 2000. Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Res.* 67, 105–122.
- Bowerman, P., 1993. Effects of cultivations upon volunteer oilseed rape. *Aspects Appl. Biol.* 35, 163–166.
- Colbach, N., Clermont-Dauphin, C., Meynard, J.M., 2001. GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agric. Ecosyst. Environ.* 83, 235–253.
- Dessaint, F., Chadoeuf, R., Barralis, G., 1997. Nine years' soil seed bank and weed vegetation relationships in an arable field without weed control. *J. Appl. Ecol.* 34, 123–130.
- Downey, R.K., 1999. Gene flow and rape—the Canadian experience. In: *Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops*. Proceedings of the BCPC Symposium, 12th–14th April 1999, Keele, UK, pp. 109–116.
- Götz, R., Ammer, F., 2000. Ergebnisse der Anwendung von Liberty in transgenem Winterraps in Thüringen. *J. Plant Dis. Prot.* XVII, 397–401. (Special Issue).
- Gruber, S., Pekrun, C., Claupein, W., 2002. Variation of secondary dormancy in genetically modified and conventionally bred oilseed rape. VII. Congress of the European Society of Agronomy, Cordoba, Spain, 15th–18th July 2002, pp. 187–188.
- Hackenberg, E.M., Köhler, W., 1996. Use of isozyme analysis in the breeding of synthetic rapeseed cultivars. *Plant Breed.* 115, 474–479.
- Légère, A., Simard, M.J., Thomas, A.G., Pageau, D., Lajeunesse, J., Warwick, S.I., Derksen, D.A., 2001. Presence and persistence of volunteer canola in Canadian cropping systems. Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference—Weeds, 12th–15th November 2001, Weeds, Brighton, UK, pp. 143–148.
- López-Granados, F., Lutman, P.J.W., 1998. Effect of environmental conditions on the dormancy and germination of volunteer oilseed rape seed (*Brassica napus*). *Weed Sci.* 46, 419–423.
- Lutman, P.J.W., 1993. The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Aspects Appl. Biol.* 35, Volunteer crops as weeds, 29–36.
- Lutman, P.J.W., López-Granados, F., Pekrun, C., 1994. The biology and control of volunteer oilseed rape. Proceedings of the Oilseeds R&D Conference, Wicksted Park, November 1994, pp. 5.1–5.11.
- Mohler, C.L., 1993. A model of the effect of tillage on emergence of weed seedlings. *Ecol. Appl.* 3 (1), 53–73.
- Pekrun, C., 1994. Untersuchungen zur sekundären Dormanz bei Raps (*Brassica napus* L.). Ph.D. Thesis, Georg-August University Göttingen.
- Pekrun, C., Claupein, W., 1999. Bedeutung der Stoppelbearbeitung als pflanzenbauliche Maßnahme zur indirekten Unkrautkontrolle. *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* 12, 59–60.
- Pekrun, C., Lutman, P.J.W., López-Granados, F., 1996. Population dynamics of volunteer rape and possible means of control. Proceedings of the Second International Weed Control Congress, Copenhagen, pp. 1–6.
- Pekrun, C., Potter, T.C., Lutman, P.J.W., 1997. Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. Proceedings of

- the 1997 Brighton Crop Protection Conference. Weeds, pp. 1, 243–248.
- Pekrun, C., Hewitt, J.D.J., Lutman, P.J.W., 1998a. Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *J. Agric. Sci.* 130, 155–163.
- Pekrun, C., Lutman, P.J.W., Baeumer, K., 1998b. Research on volunteer rape: a review. *Pflanzenbauwissenschaften* 2 (2), 84–90.
- Pekrun, C., Ripfel, H., Albertini, A., Lutman, P.J.W., Claupein, W., 1998c. Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Ausbildung einer Samenbank bei Raps—Ergebnisse von sechs Standorten in England und einem in Österreich im Jahre 1997. *Mitt. Ges. Pflanzenbauwiss.* 11, 51–52.
- Pekrun, C., Lane, P.W., Lutman, P.J.W., 1999. Modelling the potential for gene escape via the soil seedbank: its relevance for genetically modified cultivars. *Proceedings of the 1999 Brighton Crop Protection Conference Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops*, pp. 72, 101–106.
- Pekrun, C., El Titi, A., Claupein, W., 2003. Implications of soil tillage for crop and weed seeds. El Titi, A. (Eds.), *Soil Tillage in Agroecosystems*, 115–146 CRC Press LLC Boca Raton, FL, USA.
- Price, J.S., Hobson, R.N., Neale, M.A., Bruce, D.M., 1996. Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *J. Agric. Eng. Res.* 65, 183–191.
- Rakow, O., Woods, D.L., 1987. Outcrossing in rape and mustard under Saskatchewan prairie conditions. *Can. J. Plant Sci.* 67, 147–151.
- Roller, A., Beismann, H., Albrecht, H., 2002. Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape — first observations under practically relevant conditions in South Germany. *J. Plant Prot.* XVIII, 255–260 (Special Issue).
- Schlink, S., 1998. 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *J. Plant Dis. Prot.* XVI, 169–172. (Special Issue).
- Staniland, B.K., McVetty, P.B.E., Friesen, L.F., Yarrow, S., Freyssinet, G., Freysinnet, M., 2000. Effectiveness of border areas in confining the spread of transgenic *Brassica napus* pollen. *Can. J. Plant Sci.* 80 (3), 521–526.
- Strauß, R., Bleiholder, H., van den Boom, T., Buhr, L., Hack, H., Heß, M., Klose, R., Meier, U., Weber, E., 1994. Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen. *Erweiterte BBCH-Skala*. Ciba-Geigy AG, Basel.
- Timmons, A.M., O'Brian, E.T., Charters, Y.M., Dubbels, S.J., Wilkinson, M.J., 1995. Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ss. *oleifera*. *Euphytica* 85, 417–423.

6 Life cycle and potential gene flow of volunteer oilseed rape in different tillage systems

Life cycle and potential gene flow of volunteer oilseed rape in different tillage systems

S GRUBER, C PEKRUN, W CLAUPEIN

Institute for Crop Production and Grassland Research, University of Hohenheim, 70599 Stuttgart, Germany

Summary

The study examined the effect of stubble tillage and primary tillage (intensive vs. zero tillage) on potential gene flow during the life cycle of oilseed rape volunteers between July 2002 and August 2003. After growing oilseed rape, 4–29% of the seeds lost during harvest entered the soil seedbank when stubble tillage was performed immediately after the seed input. The seedbank was small (0–3%) when stubble tillage was delayed. Zero tillage resulted in seedbanks from 1 to 17% of the initial seed input. The seeds were distributed mainly in the upper soil layers after zero tillage or primary tillage with a rigid tine cultivator, whereas ploughing shifted most of the seeds into deeper layers. The highest number of volunteers (1 plant m⁻²) emerged and flowered in the following crop of winter wheat either when a large soil seedbank existed and/or the seedbank was located mainly in the upper soil layer. Outcrossing with other rape crops was unlikely as volunteers flowered 1 month later than rape crops grown normally. These volunteers produced a maximum of 8 viable seeds m⁻². Ploughing preserved seeds in deep soil layers transferring the risk of gene flow to the future, whereas non-inversion tillage could cause gene flow from high numbers of flowering volunteers within the first year following oilseed rape cultivation.

Keywords: *Brassica napus* L., oilseed rape, gene flow, tillage, soil seedbank, volunteers, GMO, dormancy, persistence

Introduction

The European Union (EU) has formulated an amended legal basis for deliberate release of genetically modified (GM) crops. The next steps will be to formulate perspectives and standards for the co-existence of conventional and organic crops with GM crops. Herbicide-tolerant oilseed rape (*Brassica napus* L.) is a crop of the first GM generation, because of the easy identification of the transformed plants, the simple genetic background (Metz *et al.*, 1997) and the importance of rape seeds for oil production worldwide (Anonymous, 2003a). Shifting the focus from herbicide tolerance to seed qualities or other agronomical properties, the interest in GM oilseed rape could increase in future. Nevertheless, the public concern and objections of organic farmers as well, may limit this development.

At the beginning of the food chain, gene flow can be assumed to be pollen-mediated from field to field or from single volunteers to a crop. Several studies describe outcrossing rates of GM oilseed rape depending on the distance and size of the pollen source of up to 2.3% (Simpson *et al.*, 1999; Götz & Ammer, 2000). Although pollen trap crops and isolation distances can reduce outcrossing rates (Scheffler *et al.*, 1993; Morris *et al.*, 1994; Timmons *et*

al., 1995; Pfeilstetter *et al.*, 1998; Downey, 1999), cross-pollination by flowering oilseed rape volunteers growing in a rape crop cannot be excluded. Oilseed rape volunteers produce seeds by themselves (Gruber *et al.*, 2004a) that could be harvested together with the crop. The labelling threshold of 0.9% for transgenic impurities in food or feed according to Regulation (EC) No. 1831/2003 (Anonymous, 2003b) may consequently be exceeded by outcrossing and seed production of GM volunteers as well. Therefore, besides the direct, assessable gene flow from a currently grown GM crop, volunteers are another source for gene flow that is not easy to calculate.

According to the comparatively high seed losses before and during harvest of oilseed rape (Price *et al.*, 1996; Pekrun & Claupein, 2002; Gruber *et al.*, 2003b, 2004b; Gulden *et al.*, 2003), the number of potential volunteers is high. Those seeds that become secondarily dormant and persist in the soil seedbank over several years (Schlink, 1998; Légère *et al.*, 2001; Roller *et al.*, 2002; Simard *et al.*, 2002; Gruber *et al.*, 2003b; Lutman *et al.*, 2003) transfer the risk to the next growing season. Volunteers emerging from the soil seedbank can be controlled quite well chemically or mechanically in cereal crops following oilseed rape, but there is no opportunity to control oilseed rape volunteers in another rape crop. The capability of rape seeds to be induced into secondary dormancy varies between genotypes (Pekrun *et al.*, 1997c; Gruber *et al.*, 2002, 2003a; Momoh *et al.*, 2002). Gruber *et al.* (2003a) demonstrated in laboratory experiments that the dormancy level of oilseed rape cultivars was significantly positively correlated between two harvest years. In addition to this genetic disposition, the environmental influence during seed maturation additionally determines the potential level of secondary dormancy (Fenner, 1991; Gruber *et al.*, 2002).

Post-harvest conditions are also crucial factors for rape seeds becoming persistent for several years. Water, light and gaseous conditions of the soil are factors that have an effect on secondary dormancy (Pekrun *et al.*, 1997a,b; López-Granados & Lutman, 1998; Momoh *et al.*, 2002) within the limit set by the genetic background and the parental disposition. Low water supply and darkness can induce secondary dormancy. These conditions often occur in summer when oilseed rape is harvested and seeds from harvest losses are buried in the soil by tillage. Therefore time and method of postharvest tillage operations are crucial for establishing a soil seedbank (Pekrun *et al.*, 1998a,b; Pekrun, 2003; Gruber *et al.*, 2004a). Immediate incorporation of seeds into the soil after harvest enhanced future seed persistence. Several approaches were made to model the behaviour of oilseed rape volunteers in the field (Colbach *et al.*, 2001; Pekrun *et al.*, 2004). However, only a few indications are given for what happens to the seeds and resulting volunteers in the long term. When GM plants are to be integrated in current farming and cropping systems, principles that allow a co-existence of the different systems have to be worked out.

The aim of the current study was to point out crucial factors and periods for gene flow in the life cycle of volunteer oilseed rape, and to describe cropping approaches to minimize or avoid interference between GM crops and conventional crops. Two field trials were set up to describe the effect of four tillage treatments performed in the time between the harvest of oilseed rape and the sowing of the following winter wheat crop. Beginning with the seed rain during harvest of oilseed rape, the whole life cycle of volunteers was surveyed until the winter wheat along with the volunteers was harvested. The data provide a base for the validation of existing model calculations and for further modelling approaches. The results can be used to limit the risk of gene flow and to design cropping systems enabling co-existence with and without GM crops.

Materials and methods

Experimental design

Two field experiments were established in 2002 on the Experimental Station 'Ihinger Hof' (450 m a.s.l.) of the University of Hohenheim on a loamy soil. The area is located in south-west Germany and climatically characterised by 689 mm annual precipitation and 8.0 °C mean annual temperature.

For the experiment 'artificial seed losses' a defined number of 10 000 rape seeds m⁻² was broadcast on a cereal stubble on July 2002 to imitate harvest losses. A seed drill without seeding shares broadcast the seeds on the soil. Experiment 'actual seed losses' was performed with seeds actually lost during harvest of a rape crop grown on the experimental field from August 2001 until July 2002.

Four tillage treatments that represent different tillage intensities were performed in each experiment in autumn after the seed input (Table 1).

Table 1 Tillage treatments after seed input, implements used and cultivation depths

Treatment	Stubble tillage after seed input (rotary tiller, 10 cm)	Primary tillage (depth)
T1	Immediately	Plough (25 cm)
T2	4 weeks delayed	Plough (25 cm)
T3	Immediately	Rigid tine cultivator (15 cm)
T4	None	None

The treatments included inversion tillage by plough (T1 and T2) at a depth of 25 cm, non-inversion tillage with a rigid tine cultivator (T3) at 15 cm and a zero tillage treatment with direct drilling of the following crop (T4). Shallow stubble tillage was performed within 24 h after the seed input in T1 and T3, and with 4 weeks of delay prior to the primary tillage in T2. No tillage was performed in T4 at all. Primary tillage by plough was performed on 15 October 2002 ('artificial seed losses') and 16 October 2002 ('actual seed losses'), and by rigid tine cultivator on 29 October 2002.

The experiment 'artificial seed losses' was set up in a split-plot design with tillage treatments on main plots and cultivars on subplots (4 × 10 m), and with four replicates. Experiment 'actual seed losses' was a block design with four replications and a plot size of 10 m × 10 m.

To allow a transfer of the results to current GM cultivars, the conventionally bred, near-isogenic cultivars Artus and Liberator were used. The corresponding GM cultivars Avalon^{LL} and Lilly^{LL} are tolerant to the herbicide Liberty (glufosinate). Artus and Liberator were used for the experiment 'artificial seed losses', and for 'actual seed losses' Liberator was used exclusively.

In all treatments and experiments, winter wheat cv. Transit was sown (400 seeds m⁻²) as the following crop. Seedbed preparation was performed before sowing in T1–T3, whereas sowing was performed by direct drilling in T4.

Because of the high precipitation in autumn 2002, sowing of winter wheat was later than usual for this region, and performed in the frozen soil ('artificial seed losses': 9 January 2003; 'actual seed losses': 9 December 2002). On 2 October 2002, an application of the non selective herbicide glyphosate was used to destroy all emerged weeds and volunteers. Herbicides were not applied after then in the winter wheat to enable volunteers to grow until harvest.

Data collection

For the determination of seed losses during harvest in 'actual seed losses', cloths with a size of 70 × 50 cm were randomly placed under the standing rape crop directly before harvest, covering the whole mowing width of the combine harvester. The plant stems were cut shortly over the soil surface and then the cloths were placed between stubbles and stems. The seeds sampled on the cloths were carefully cleaned of impurities to obtain a seed lot containing seed fractions of all sizes and weights.

A germination test was performed to test the viability of the seeds shortly after the seed input. Four times 100 seeds of each cultivar and experiment were spread on filter paper in 9-cm Petri dishes containing 6 mL deionized water. The seeds germinated in darkness at 20 °C over a period of 14 days. Afterwards all remaining, intact seeds were exposed to varying temperature and light conditions of 3 °C, darkness, 12 h / 30 °C, light, 12 h over 3 days. Seeds germinating after this period were declared as formerly primarily dormant. The seeds produced by volunteers were tested for viability by the same procedure, except that germination took place under continuous light and that the total number of seeds obtained from volunteers was tested.

The outcome of the seeds lost or broadcast onto the soil was observed in six surveys as indicated in Table 2.

Table 2 Surveys during the life cycle of rapeseed volunteers

Survey	Time
Harvest losses	25 July 2002
Autumn emergence	August to October 2002
Soil seedbank	11 and 12 February 2003
Spring emergence	18 and 21 April 2003
Flowering volunteers	May to July 2003 (four times)
Seed production	25 and 30 July 2003

The number of plants emerging in autumn was counted on 10 0.025 m² quadrates in each plot. For the determination of the soil seedbank, 40 soil samples were taken per plot by a 11 × 15 mm auger in a depth of 0–30 cm, separated into three layers of 10 cm each and frozen for conservation. Persisting seeds were washed out from the soil samples in a 4 mm and a 1 mm sieve. All detected intact rape seeds with yellow embryo were declared persistent and assumed to be part of the soil seedbank. To record spring emergence and flowering volunteers, all individuals in a plot were counted. The dates of flowering surveys were 29 May, 10 June, 23 June, and 1 July. Different coloured labels were used to identify the flowering plants at each survey and control the course of flowering.

Two rows of winter wheat equivalent to 1 m² were counted in each plot to determine crop density shortly before harvest on 4 August. The aim of this survey was to assess the competitive effect of the cultivated crop towards the volunteers.

Statistical analysis

The statistical analysis was performed in SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) with the MIXED procedure and Fisher's LSD ($P = 0.05$) with Satterthwaite's approximation. To meet the standards of the analysis of variance, data were transformed to $\ln(x + 0.1)$ whenever necessary.

Results and discussion

Seed losses

During rape crop harvesting in experiment ‘actual seed losses’, a mean of 1324 seeds m⁻² were shed onto the soil. Seed losses before harvest were, if any, obviously very low as no rape seeds or seedlings were observed on the soil surface. Nevertheless, a certain amount of pre-harvest seed losses seem likely according to Price *et al.* (1996) and Pahkala and Sankari (2001). Thus, a higher overall loss can be supposed for the experiments. The absolute number of seeds lost by harvesting in the experiments corresponded to 1.5% of the total yield (Table 3).

Table 3 Yield, seed input, viability and primary dormancy of seeds of two oilseed rape cultivars; data obtained from the experiments ‘artificial seed losses’ and ‘actual seed losses’; standard error of mean for seed input of ‘actual seed losses’: 261.0

Experiment Cultivar	Yield (t ha ⁻¹)	Seed input (m ⁻²)	Seed losses (% yield)	Viability (%)	Primary dormancy (% dormant seeds/viable seeds)
Artificial seed losses					
Artus	–	10 000	–	98.3	0.0
Liberator	–	10 000	–	87.0	1.7
Actual seed losses					
Liberator	3.3	1 324	1.5	99.3	0.0

Compared with observations by Price *et al.* (1996) and Gulden *et al.* (2003) who reported seed shed during harvest amounted to losses of 5.9% of the yield or up to 14 500 seeds m⁻² in total (Pekrun & Claupein, 2002) the current results were in the lower level of the spectrum. The seeds used in the experiments had a viability of 87.0–99.3% (Table 3). About 2% of the viable seeds from Liberator used for ‘artificial seed losses’ were primarily dormant when broadcast onto the soil.

Autumn emergence and soil seedbank

The emergence in autumn ranged between about 2200 and 3500 plants m⁻² in the ‘artificial seed losses’ experiment (Table 4) and between 430 and 1200 plants m⁻² in the ‘actual seed losses’ experiment (Table 5). Based on a seed input of 10 000 seeds m⁻² in ‘artificial seed losses’ and 1324 seeds m⁻² in experiment ‘actual seed losses’, these numbers corresponded to a range of 22–35% and 32–90% of all initial seeds, respectively.

The highest rate of emergence in both experimental approaches was observed in T2 (stubble tillage delayed, primary tillage plough). In the experiment ‘actual seed losses’ 90% of the seed input emerged in autumn, while in ‘artificial seed losses’ this number was about 35%. This result can be explained by the influence of the soil movement. After a first cohort of seeds emerging directly after the seed input, the delayed stubble tillage may have stimulated a second cohort of seeds to germinate. The zero tillage treatment does not seem to have provided a seedbed as suitable as in tilled soils. The proportion of plants emerged in autumn was 22% of the seed input in ‘artificial seed losses’ and 32% in ‘actual seed losses’. This number was lower than for the other treatments.

The soil seedbank consisted of a maximum of 29% of the seed input shortly before the vegetation period started in spring 2003 (Tables 4 and 5). The lowest number of seeds was found in T2 (delayed stubble tillage, primary tillage plough). A complete omission of any tillage (T4) did not reduce the soil seedbank further, but on the contrary led to larger seedbanks than in T2. Comparatively large soil seedbanks were established in T1 and T3 where stubble tillage was performed immediately after the seed input. There were no significant differences in the size of the soil seedbank between primary tillage with inversion and non-inversion implements if the date of stubble tillage was the same.

Table 4 Autumn emergence and seeds entering the soil seedbank from artificial seed losses of oilseed rape as effected by tillage; values as percentage of the seed input and as absolute values; in brackets: data *transformed* $\ln(x + 0.1)$; no significant differences between figures with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), comparison within same cultivar and survey only; standard error of mean 'autumn emergence': 290.7; 'soil seedbank' (*transformed*): 1.295

Cultivar	Tillage treatments							
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
	Relative (% of seed input)				Absolute (plants or seeds m ⁻²)			
	Autumn emergence (plants, autumn 2002)							
Artus	31.1	35.3	32.7	22.1	3105 ^a	3530 ^a	3271 ^a	2206 ^b
Liberator	26.0	34.4	26.4	22.4	2604 ^{ab}	3442 ^a	2636 ^{ab}	2240 ^b
	Soil seedbank (seeds, 11/12 February 2003)							
Artus	7.9	0.4	3.8	1.5	794 (6.59) ^a	38 (-0.47) ^b	378 (5.70) ^a	151 (-0.13) ^b
Liberator	9.8	0.0	14.0	0.8	983 (6.81) ^a	0 (-2.30) ^b	1399 (7.05) ^a	75 (-0.30) ^b

Table 5 Autumn emergence and seeds entering the soil seedbank from actual seed losses of oilseed rape as effected by tillage; values as percentage of the seed input and as absolute values; no significant differences between figures with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), comparison within same survey only; standard error of mean 'autumn emergence': 187.9; 'soil seedbank': 85.9

Cultivar	Tillage treatments							
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
	Relative (% of seed input)				Absolute (plants or seeds m ⁻²)			
	Autumn emergence (plants, autumn 2002)							
Liberator	49.0	90.4	61.1	32.2	650 ^a	1199 ^a	810 ^a	427 ^a
	Soil seedbank (seeds, 11/12 February 2003)							
Liberator	28.5	2.9	14.3	17.1	378 ^a	38 ^b	189 ^{ab}	227 ^{ab}

These results agree with those from Pekrun *et al.* (1998b) and Gruber *et al.* (2004a) who observed that delayed tillage or zero tillage resulted in a smaller soil seedbank of oilseed rape seeds in comparison with immediate tillage. Roller *et al.* (2003) also describe the soil seedbank from transgenic rapeseed cultivars being smaller after shallow-tillage than after deep-tillage operations. The near-isogenic cultivars examined in the study by these authors, however, react differently from the transgenic ones.

In general, time and method of tillage had an effect on the size of the soil seedbank. It seems that an incorporation of the seeds into the soil induces dormancy and leads to seed persistence. Seeds on, or near to, the soil surface did not become as dormant as those shifted deeper into the soil. The aim of stubble tillage after oilseed rape should consequently not be an attempt to reduce the absolute number of seeds by stimulating seed emergence, but rather to avoid the provision of conditions that promote seed persistence. An explanation for the relatively high persistence rates of seeds in the zero tillage system could be the straw cover that may have provided conditions suitable for dormancy induction.

Ploughing (T1 and T2) shifted the seeds mainly to a depth of 10–20 cm, whereas the majority of seeds remained in the upper layer of 0–10 cm after non-inversion tillage by a rigid tine cultivator, or for the zero tillage treatment (Figs 1 and 2).

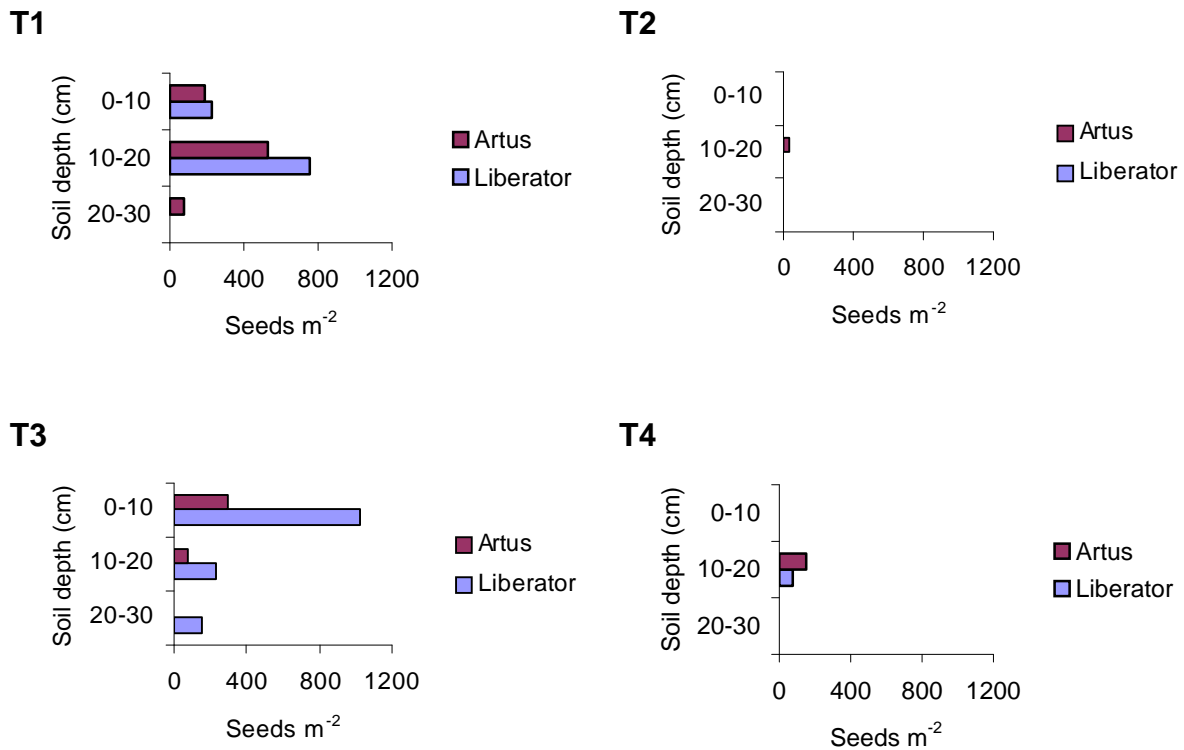


Fig. 1 Vertical distribution of the soil seedbank from artificial seed losses of the oilseed rape cultivars Artus and Liberator in different soil layers as effected by tillage (treatments T1–T4)

Similar effects of different tillage operations and implements on the vertical seed distribution are described by Pekrun *et al.* (2003). The majority of seeds was shifted into deeper layers by ploughing and merely mixed in the upper layers by a tine cultivation.

A considerable proportion of all seeds (up to 75%) neither germinated nor were found again in the soil seedbank. It is evident that other factors may have contributed to a reduction of the seed number. Seed predation by invertebrates, for instance ground beetles (Honek &

Martinkova, 2003), or by vertebrates such as mice or birds (Lutman *et al.*, 2002; Westerman *et al.*, 2003) has to be considered as well as desiccation or diseases. In the case of high emergence densities, competition between the volunteer seedlings may have led to some plant death. Another important mortality factor may have been fatal germination when non-dormant seeds started to germinate from deep soil layers.

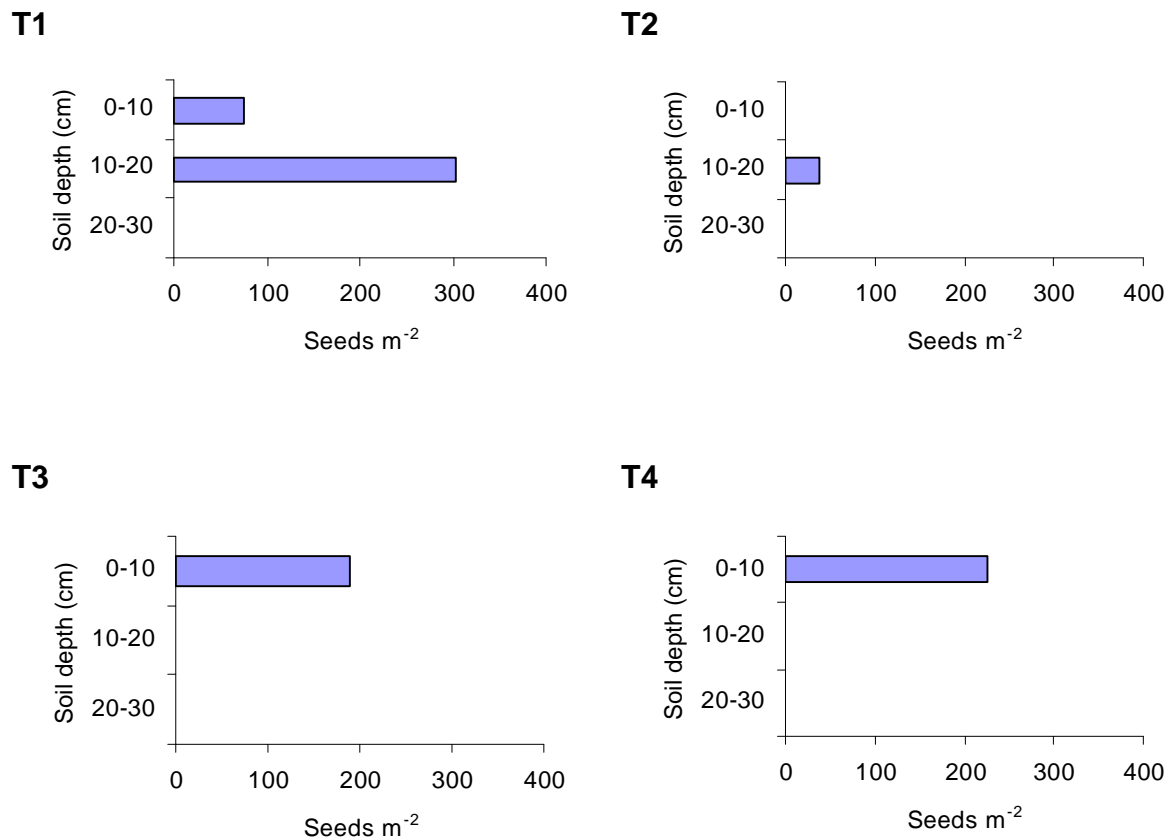


Fig. 2 Vertical distribution of the soil seedbank from actual seed losses of the oilseed rape cultivar Liberator in different soil layers as effected by tillage (treatments T1–T4)

Spring emergence and flowering volunteers

The area was completely free of weeds in the beginning of spring 2003, mainly because of an unusual drought and severe frost. Therefore, all rapeseed volunteers observed in winter wheat must have emerged after winter. In a moderate climate, single plants emerging in autumn could generally be assumed, to overwinter as reported by Gruber *et al.* (2004a).

Only a few seeds of the soil seedbank germinated in spring compared with the autumn emergence (Tables 6 and 7). The largest number of volunteer seedlings observed in April in winter wheat was 1.3 plants m⁻² in T3. Later on, in spring and summer 2003, volunteers kept on emerging, but the absolute number of flowering oilseed rape volunteers was often lower than the number of plants recorded in early spring. The reduction of seedlings was probably because of competition with winter wheat, predators and diseases. Additionally, a lack of vernalization may have prevented some seedlings from entering the generative phase.

Finally, a maximum of 0.05% of the seed input came into flower in the first summer following the rape crop, resulting in a maximum of about 1 volunteer plant m⁻² at the final survey on 1 July. These observations contradict the hypothesis of Colbach *et al.* (2001) who

concluded by modelling that rape volunteers cannot flower in late-sown cereals or in spring crops. However, as demonstrated in the current study, also in winter wheat sown in December or January, oilseed rape volunteers can flower very well. The vernalization requirements of the winter oilseed rape cultivars were either met by low temperatures in spring 2003, or these requirements were low in general. An emergence and flowering of volunteers in early-sown spring crops can be assumed as a consequence of the observations. Nevertheless, volunteers emerging in the generally late-sown spring crop maize (25 and 30 April) were not able to flower, as described by Hommel and Pallut (2004).

Table 6 Spring emergence and flowering oilseed rape volunteers from artificial seed losses observed in winter wheat as effected by tillage; values as percentage of the seed input and as absolute values; in brackets: data *transformed* $\ln(x + 0.1)$; no significant differences between figures with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), comparison within same cultivar and survey only; standard error of mean 'spring emergence' (*transformed*): 0.188; 'flowering volunteers': 0.050

Cultivar	Tillage treatments							
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
	Relative (% of seed input)				Absolute (plants m ⁻²)			
	Spring emergence (21 April 2003)							
Artus	0.7·10 ⁻³	0.0	6.4·10 ⁻³	0.2·10 ⁻³	0.07 (-1.82) ^b	0.00 (-2.30) ^b	0.64 (-0.40) ^a	0.02 (-2.17) ^b
Liberator	1.2·10 ⁻³	0.0	13.0·10 ⁻³	0.4·10 ⁻³	0.12 (-1.55) ^b	0.00 (-2.30) ^c	1.34 (0.21) ^a	0.04 (-2.00) ^{bc}
	Flowering volunteers (1 July 2003)							
Artus	0.8·10 ⁻³	0.1·10 ⁻³	3.2·10 ⁻³	0.1·10 ⁻³	0.08 ^b	0.01 ^b	0.32 ^a	0.01 ^b
Liberator	1.7·10 ⁻³	0.0	10.1·10 ⁻³	0.9·10 ⁻³	0.17 ^b	0.00 ^c	1.01 ^a	0.09 ^{bc}

Table 7 Spring emergence and flowering oilseed rape volunteers from actual seed losses observed in winter wheat as effected by tillage; values as percentage of the seed input and as absolute values; no significant differences between figures with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), comparison within same survey only; standard error of mean 'spring emergence': 0.052; 'flowering volunteers': 0.056

Cultivar	Tillage treatments							
	T1	T2	T3	T4	T1	T2	T3	T4
	Relative (% of seed input)				Absolute (plants m ⁻²)			
	Spring emergence (18 April 2003)							
Liberator	0.00	0.00	0.04	0.07	0.04 ^c	0.03 ^c	0.56 ^b	0.89 ^a
	Flowering volunteers (1 July 2003)							
Liberator	0.01	0.01	0.05	0.05	0.16 ^b	0.14 ^b	0.66 ^a	0.72 ^a

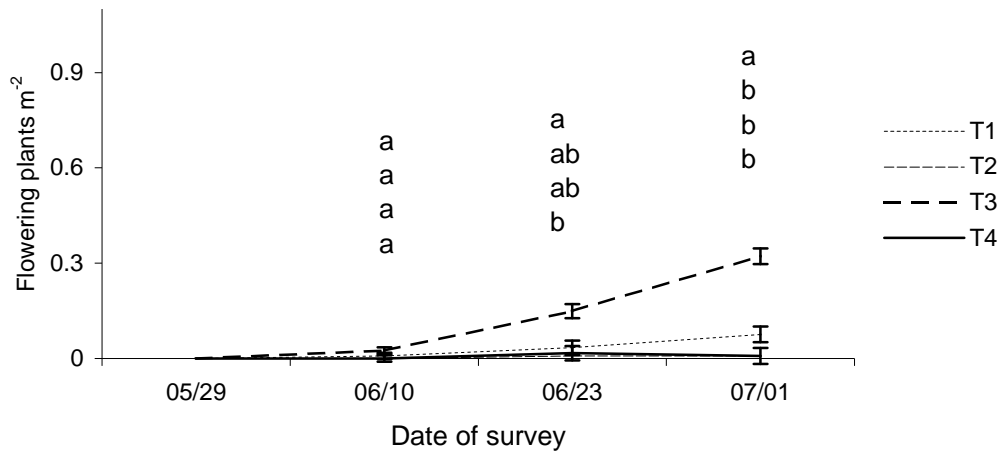
The number of flowering volunteers was relatively high in T3 (stubble tillage immediately, primary tillage rigid tine cultivator; Fig. 3). In the experiment 'actual seed losses' (T4) the zero tillage treatment also resulted in high densities of flowering plants.

The volunteers started flowering when the flowering period of normally-sown oilseed rape on adjacent fields had finished. An outcrossing into other rape crops was unlikely that year, although in 2002 a temporary overlapping of volunteers and normal crop took place (Gruber *et al.*, 2004a). It is obvious that the chance for gene flow to other crops is due to the time when the volunteer seedlings emerge in spring. Seedlings that emerge late probably do not flower because of the absence of vernalization; additionally, their growth development should be delayed compared to a normal-sown crop.

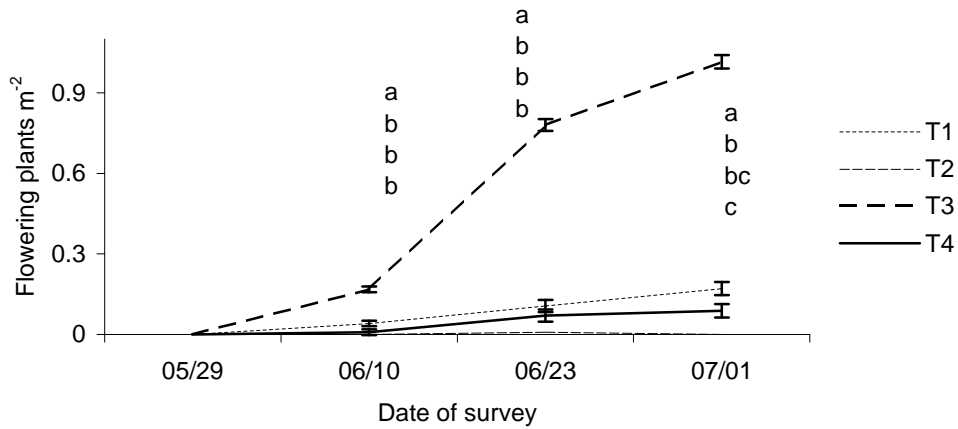
The number of flowering volunteers in each treatment can be only partly explained by the size of the soil seedbank. This becomes apparent by the comparison of the flowering of Liberator in T1 and T3 (Fig. 3B, C). These treatments differed significantly in the number of flowering plants in spite of non-significant differences between the size of the soil seedbank. Although T1, T3 and the zero tillage treatment T4 in the experiment 'actual seed losses' did not differ significantly in the size of the soil seedbank (Table 5), the majority of flowering volunteers grew in T3 and T4. Volunteers obviously emerged and came into flower at a higher density compared with other treatments when the soil seedbank was mainly in the upper layer (T3 and T4; Figs 1 and 2).

Lutman (1993), Schlink (1995) and Kohout and Soukup (1996) showed, in burial experiments, that germination of rape seeds declined with increase in burial depth. A critical depth seemed to be about 6 cm, a value below which emergence of rape seeds was clearly very weak. It can be assumed that the seeds in deeper soil layers did either not germinate because of the maintenance of secondary dormancy, or instead they germinated but did not reach the soil surface (fatal germination). If dormancy was the reason for lower emergence, the soil seedbank would hardly be reduced in these treatments but in fact would persist over a specific period. This soil seedbank could be shifted by another ploughing operation to upper layers and germinate successfully after release from dormancy, possibly induced by the effect of light or alternating temperatures.

A



B



C

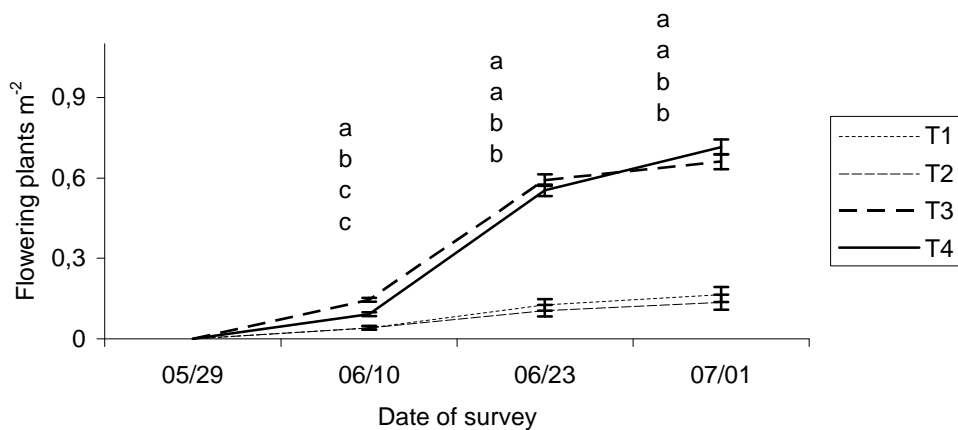


Fig. 3 (A-C) Flowering of oilseed rape volunteers m^{-2} (cv. Artus and cv. Liberator) from artificial (A and B) or actual (C) seed losses, observed in winter wheat in summer 2003, as effected by tillage; error bars represent Fisher standard error of means; no significant differences between values with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), order of letters according to the ranking of the treatments at each date

Seed production of volunteers

The oilseed rape volunteers were highly affected by cabbage aphids (*Brevicoryne brassicae* L.) and pollen beetles (*Meligethes aeneus* F.). Although the plants produced pods and seeds, the majority of seeds did not ripen because of the pests. Nevertheless, several plants that flowered between 10 June and 1 July produced fully ripened and viable seeds until harvest of the winter wheat on 4 August (Table 8). The maximum number was 7.5 viable seeds m⁻² found in T3. This value is clearly lower than that reported from earlier experiments by Gruber *et al.* (2004a), who found a maximum of 60 viable seeds m⁻² in a similar experimental design, after considering the viability of 52%. In general, T2 and T4 resulted in a lower production of a new generation of seeds than T1 and especially T3. It is evident that treatments resulting in a high number of flowering volunteers also resulted in the highest number of seeds. Only the reproduction of plants in T4 (zero tillage) from artificial seed losses was lower than that in the other treatments, although a high number of plants had flowered. Intermixtures in the harvested crop or an addition to the soil seedbank can be assumed as a consequence of the seed production.

Table 8 Viable seeds m⁻² produced by oilseed rape volunteers in winter wheat; in brackets: data transformed $\ln(x + 0.1)$; no significant differences between figures with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), comparison within same cultivar and experiment only; standard error of mean 'artificial seed losses' (transformed): 0.425; 'actual seed losses': 0.339

Experiment	Cultivar	Tillage treatments			
		T1	T2	T3	T4
Viable seeds produced by volunteers (m ⁻²)					
Artificial seed losses	Artus	0.95 (-0.99) ^a	0.00 (-2.30) ^b	1.55 (0.08) ^a	0.00 (-2.30) ^b
	Liberator	1.66 (-0.01) ^b	0.00 (-2.30) ^c	7.54 (1.81) ^a	0.34 (-0.96) ^b
Actual seed losses	Liberator	0.95 ^a	0.57 ^a	1.46 ^a	0.23 ^a

Competition pressure of winter wheat

The number of ear-bearing stalks of the following crop winter wheat can be regarded as an indication for the competition pressure to which the oilseed rape volunteers have been exposed. With exception of T4 (zero tillage) with a noticeably high crop density in 'actual seed losses', the plant density of the winter wheat was not significantly different among the tillage treatments (Table 9).

As there was evidently no depression of volunteer growth and flowering in T4 ('actual seed losses'), the crop density of winter wheat did not affect the growth of oilseed rape volunteers in this experiment. Consequently, volunteer growth in the treatments has to be contributed mainly to the size and position of the soil seedbank and not to the competition pressure of the following crop winter wheat.

Table 9 Mean number of ear bearing stalks m^{-2} of winter wheat following oilseed rape as effected by tillage; no significant differences between figures with the same letter (Fisher's LSD, $P = 0.05$), comparison within cultivar and same experiment only; standard error of mean 'artificial seed losses': 21.32; 'actual seed losses': 26.92

Experiment	Preceding oilseed rape cultivar	Tillage treatments			
		T1	T2	T3	T4
Ear-bearing stalks of winter wheat (m^{-2})					
Artificial seed losses	Artus	513.0 ^a	487.0 ^a	475.8 ^a	453.0 ^a
	Liberator	524.8 ^a	509.3 ^a	473.3 ^a	525.8 ^a
Actual seed losses	Liberator	520.0 ^b	494.5 ^b	466.8 ^b	610.3 ^a

Cultivars

The ratio of persisting seeds was slightly higher in cv. Liberator than in cv. Artus ('artificial seed losses'), but the differences were not significant (Table 10).

Table 10 Table of variances for the development of oilseed rape volunteers from 'artificial seed losses'

Effect	Cultivar				Treatment				Cultivar × treatment			
	NDF	DDF	F	Pr > F	NDF	DDF	F	Pr > F	NDF	DDF	F	Pr > F
Autumn emergence	1	12	3.94	0.0706	3	9	4.33	0.0379	3	12	1.15	0.3704
Soil seedbank	1	12	0.01	0.9145	3	9	25.69	0.0001	3	12	0.45	0.7236
Spring emergence	1	12	19.20	0.0009	3	9	31.42	0.0001	3	12	4.50	0.0246
Flowering (1 July)	1	12	78.42	0.0001	3	9	49.19	0.0001	3	12	44.01	0.0001
Seed production	1	12	15.61	0.0019	3	9	17.59	0.0004	3	12	2.10	0.1542

A generally higher potential for secondary dormancy in cv. Liberator than in cv. Artus has been reported by Gruber *et al.* (2002, 2004b). However, there is no clear difference in the current study in seed persistence between the cultivars, although secondary dormancy of rape seeds tested in the laboratory corresponded to seed persistence in the field (Gruber *et al.*, 2003a). Significant differences between the cultivars and interactions between cultivar and tillage treatment were observed for 'spring emergence' and 'flowering volunteers'. An explanation for interactions found for surveys nearly 1 year after the onset of the experiment may be the cultivar-specific release from dormancy combined with the soil depths in which the seeds were located. The number of seeds produced by volunteers differed between the cultivars and seems to be related to the number of volunteer plants. An assessment of whether

hybrids (cv. Artus) react differently from open pollinators (cv. Liberator) regarding seed persistence and germination ability is needed. A segregation in the F₂ generation – the volunteer generation – could lead to a non-uniform persistence and growth behaviour.

Conclusions

The time and implementation of tillage are crucial for a potential gene flow, because the number of persisting rape seeds is affected by tillage operations after harvest. An immediate incorporation of rape seeds into the soil after harvest should be avoided. The combination of delayed stubble tillage and deep primary tillage seems to be particularly efficient in keeping the soil seedbank small. Oilseed rape volunteers emerging in spring should be controlled chemically or mechanically, if possible, at least until the end of April to avoid flowering and seed production. Plants emerging later are not likely to flower simultaneously with conventional rape crops and result in spatial gene flow. Weed control can generally inhibit the entire development, including production of ripe seeds, in winter cereals also. However, threshold for the economic damage and the decision for or against weed control, could be lower with GM oilseed rape volunteers than conventional volunteers. Another strategy to minimize gene flow would be to grow late-sown spring crops, e.g. maize, where rapeseed volunteers would emerge too late for outcrossing with other rape crops. Additionally, the vernalization stimulus would probably be missing for late-emerging winter oilseed rape volunteers, although not for spring oilseed rape.

Although the number of flowering volunteers was highest after rigid tine cultivation or zero tillage in the first year after oilseed rape cultivation, the plough treatments may preserve seeds in deeper layers from where germination is currently restrained. In the second or third year of the crop rotation after oilseed rape cultivation, the risk of gene dispersal can be assumed to be high in these treatments if seeds are moved to upper soil layers by repeated ploughing. Volunteers in another rape crop cannot be identified or controlled and may develop well. This can lead to undesirable outcrossing or contamination if GM volunteers are harvested with the crop. Wide crop rotations, therefore, can further support strategies for avoiding gene flow. The results presented in this study contribute to the development of strategies to minimize or avoid gene flow and offer perspectives for co-existence between GM crops and non-GM crops in conventional or organic farming systems.

References

- ANONYMOUS (2003a) Food and Agriculture Organization of the United Nations, statistics. http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp, visited 13 October 2004.
- ANONYMOUS (2003b) Regulation (EC) No 1831/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. *Official Journal of the European Union L 268*, **46**, 18 October 2003, 24–28.
- COLBACH N, CLERMONT-DAUPHIN C & MEYNARD JM (2001) GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. I. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **83**, 235–253.

- DOWNEY RK (1999) Gene flow and rape—the Canadian experiment. In: Proceedings 1999 *Symposium 'Gene Flow and Agriculture—Relevance for Transgenic Crops'*, Keele, UK, **72**, 109–116.
- FENNER M (1991) The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* **1**, 75–84.
- GÖTZ R & AMMER F (2000) Ergebnisse der Anwendung von Liberty in transgenem Winter-
rap in Thüringen. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVII*, 397–
401.
- GRUBER S, PEKRUN C & CLAUPEIN W (2002) Variation of secondary dormancy in genetically
modified and conventionally bred oilseed rape. In: Proceedings 2002 7th *Congress of the
European Society of Agronomy*, Córdoba, Spain, 187–188.
- GRUBER S, PEKRUN C & CLAUPEIN W (2003a) Seed persistence of genetically modified and
conventionally bred oilseed rape in laboratory and burial experiments. In: Proceedings
2003 11th *International Rapeseed Congress*, Copenhagen, Denmark, 876–878.
- GRUBER S, PEKRUN C & CLAUPEIN W (2003b) Life cycle and gene dispersal of oilseed rape
volunteers (*Brassica napus* L.). In: Proceedings 2003 *BCPC International Congress
'Crop Science and Technology'*, Glasgow, Scotland, UK, 1093–1098.
- GRUBER S, PEKRUN C & CLAUPEIN W (2004a) Population dynamics of volunteer oilseed rape
(*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy* **20**, 351–361.
- GRUBER S, PEKRUN C & CLAUPEIN W (2004b) Reducing oilseed rape (*Brassica napus*)
volunteers by selecting genotypes with low seed persistence. *Journal of Plant Diseases
and Protection, Special Issue XIX*, 151–159.
- GULDEN RH, SHIRTLIFFE SJ & THOMAS AG (2003) Harvest losses of canola (*Brassica napus*)
cause large seedbank inputs. *Weed Science* **51**, 83–86.
- HOMMEL B & PALLUT B (2004) Bewertung von Glufosinat-resistentem Durchwuchsraps im
Rahmen der Fruchtfolge. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XIX*,
887–894.
- HONEK A & MARTINKOVA Z (2003) Seed consumption by ground beetles. In: Proceedings
2003 *BCPC International Congress 'Crop Science and Technology'*, Glasgow, Scotland,
UK, 451–456.
- KOHOUT V & SOUKUP J (1996) Problematik von Winterraps (*Brassica napus* L.) als Unkraut-
pflanze und einige Möglichkeiten ihrer Lösung. *Journal of Plant Diseases and
Protection, Special Issue XV*, 291–293.
- LÉGÈRE A, SIMARD MJ, THOMAS AG, PAGEAU D, LAJEUNESSE J, WARWICK SI & DERKSEN DA
(2001) Presence and persistence of volunteer canola in Canadian cropping systems. In:
Proceedings 2001 *Brighton Crop Protection Conference—Weeds*, Brighton, UK, 143–
148.
- LÓPEZ-GRANADOS F & LUTMAN PJW (1998) Effect of environmental conditions on the dor-
mancy and germination of volunteer oilseed rape seed (*Brassica napus*). *Weed Science*
46, 419–423.

- LUTMAN PJW (1993) The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Aspects of Applied Biology* **35**, 29–36.
- LUTMAN PJW, PETERS NCB & FREEMAN SE (2002) Post-harvest weed seed predation: an *Avena fatua* case study. In: *Proceedings 2002 12th EWRS Symposium*, Arnhem/Wageningen, NL, 270–271.
- LUTMAN PJW, FREEMAN SE & PEKRUN C (2003) The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *Journal of Agricultural Science* **141**, 231–240.
- METZ PLJ, JACOBSEN E & STIEKEMA WJ (1997) Occasional loss of expression of phosphinotricin tolerance in sexual offspring of transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Euphytica* **98**, 189–196.
- MOMOH EJJ, ZHOU WJ & KRISTIANSSON B (2002) Variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape genotypes under conditions of stress. *Weed Research* **42**, 446–455.
- MORRIS WF, KAREIVA PM & RAYMER PL (1994) Do barren zones and pollen traps reduce gene escape from transgenic crop? *Ecological Applications* **4**, 157–165.
- PAHKALA K & SANKARI H (2001) Seed loss as a result of pod shatter in spring rape and spring turnip rape in Finland. *Agricultural and Food Science in Finland* **10**, 209–216.
- PEKRUN C & CLAUPEIN W (2002) Zu den Ausfallverlusten von Raps sowie der Verteilung von Rapssamen und -stroh nach der Ernte. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **14**, 191–192.
- PEKRUN C, LUTMAN PJW & BAEUMER K (1997a) Induction of secondary dormancy in rape seeds (*Brassica napus* L.) by prolonged imbibition under conditions of water stress or oxygen deficiency in darkness. *European Journal of Agronomy* **6**, 245–255.
- PEKRUN C, LUTMAN PJW & BAEUMER K (1997b) Germination behaviour of dormant oilseed rape seeds in relation to temperature. *Weed Research* **37**, 419–431.
- PEKRUN C, POTTER TC & LUTMAN PJW (1997c) Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. In: *Proceedings 1997 Brighton Crop Protection Conference—Weeds*, Brighton, UK, 243–248.
- PEKRUN C, HEWITT JDJ & LUTMAN PJW (1998a) Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Journal of Agricultural Science* **130**, 155–163.
- PEKRUN C, RIFFEL H, ALBERTINI A, LUTMAN PJW & CLAUPEIN W (1998b) Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Ausbildung einer Samenbank bei Raps – Ergebnisse von sechs Standorten in England und einem in Österreich. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **11**, 53–54.
- PEKRUN C, LANE PW & LUTMAN PJW (1999) Modelling the potential for gene escape in oilseed rape via the soil seedbank: its relevance for genetically modified cultivars. In: *Proceedings 1999 Symposium ‘Gene Flow and Agriculture—Relevance for Transgenic Crops’*, Keele, UK, **72**, 101–106.

- PEKRUN C, EL TITI A & CLAUPEIN W (2003) Implications of soil tillage for crop and weed seeds. In: *Soil Tillage in Agroecosystems* (ed A El Titi), 1st edn., CRC Press LLC, Boca Raton, FL, USA, 115–146.
- PFEILSTETTER E, MATZK A, SCHIEMANN J & FELDMANN SD (1998) Untersuchungen zum Auskreuzungsverhalten von Basta[®]-tolerantem Winterraps auf nicht transgenen Raps (*Brassica napus*). *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt* **357**, 121.
- PRICE JS, HOBSON RN, NEALE MA & BRUCE DM (1996) Seed losses on commercial harvesting of oilseed rape. *Journal of Agricultural Engineering Research* **65**, 183–191.
- ROLLER A, BEISMANN H & ALBRECHT H (2002) Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape—first observations under practically relevant conditions in South Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVIII*, 255–260.
- ROLLER A, BEISMANN H & ALBRECHT H (2003) The influence of soil cultivation on the seed-bank of GM-herbicide tolerant and conventional oilseed rape. *Aspects of Applied Biology* **69**, 131–135.
- SCHEFFLER JA, PARKINSON R & DALE PJ (1993) Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*). *Transgenic Research* **2**, 356–364.
- SCHLINK S (1995) Überdauerungsvermögen und Dormanz von Rapssamen (*Brassica napus* L.) im Boden. In: Proceedings 1995 9th EWRS Symposium 'Challenges for Weed Science in a Changing Europe', Budapest, Hungary, 65–72.
- SCHLINK S (1998) 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVI*, 169–172.
- SIMARD MJ, LÉGÈRE A, PAGEAU D, LAJEUNESSE J & WARWICK S (2002) The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Québec cropping systems. *Weed Technology* **16**, 433–439.
- SIMPSON EC, NORRIS CE, LAW JR, THOMAS JE & SWEET JB (1999) Gene flow in genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK. In: Proceedings 1999 BCPC Symposium 'Gene Flow and Agriculture—Relevance for Transgenic Crops', Staffordshire, UK, 75–81.
- TIMMONS AM, O'BRIEN ET, CHARTERS YM, DUBBELS SJ & WILKINSON MJ (1995) Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica* **85**, 417–423.
- WESTERMAN PR, HOFMAN A, VET LEM & VAN DER WERF W (2003) Relative importance of vertebrates and invertebrates in epigeaic weed seed predation in organic cereal fields. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **95**, 419–425.

7 Gesamtdiskussion

Den in Kapitel 3 bis 6 vorgestellten und erörterten Ergebnissen liegen unterschiedliche Versuchsansätze und -zeiträume zu Grunde. Die einzelnen Ansätze sowie die jeweiligen Versuchsjahre, das eingesetzte Material und die Fragestellungen sind als Übersicht in Tabelle 6.1 zusammengestellt.

Tabelle 6.1: Versuchsansätze, Versuchsjahre, untersuchtes Samenmaterial und Versuchsfragen aus den Kapiteln 3 bis 6. Konventionell: aus konventioneller Züchtung; transgen: gentechnisch verändert (Herbizidtoleranz gegen Basta[®] (Wirkstoff Glufosinat). Genotyp: Genotypische Variation der Überdauerungsneigung; Bodenbearbeitung: Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Überdauerungsneigung

Versuch	Versuchsjahr	Material	Versuchsfrage	Kapitel
Labor				
I a	2001, 2002	konventionell Sortimente	Genotyp	3
I b	2002	Sorten aus Versuch V b	Genotyp	4
transgen (herbizidtolerant)				
II	2001, 2002	Sortimente	Genotyp	3
Vergrabung				
III	2001/2002, 2002/2003	konventionell Sortimente	Genotyp	3
transgen (herbizidtolerant)				
IV	2001/2002, 2002/2003	Sortimente	Genotyp	3
Feld				
V a	2001/2002, 2002/2003	konventionell künstliche Ausfallverluste mit 2 nah-isogenen Sorten	Bodenbearbeitung	5, 6
V b	2002/2003	Praxis-Ausfallverluste mit 4 konventionellen, z.T. nah-isogenen Sorten	Genotyp	4
V c	2002/2003	Praxis-Ausfallverluste, eine nah-isogene Sorte	Bodenbearbeitung	6

In den Laborversuchen (I a, I b, II) wurde durch osmotischen Stress über eine eingestellte Polyethylenglykollösung und in Dunkelheit sekundäre Dormanz in Rapssamen induziert, um genotypische Unterschiede der Überdauerungsneigung zu prüfen. Bei den Vergrabungsversuchen (III, IV) wurden Rapssamen in Stoffsäckchen für ein halbes Jahr im Freiland vergraben. Hier war ebenfalls die genotypische Variation der Überdauerungsneigung Ziel der Untersuchung. In den Feldversuchen V a und V c erfolgten auf einer Fläche mit eingetragenen Rapssamen unterschiedliche Bodenbearbeitungsmaßnahmen, um einen möglichen Effekt von Praxisbedingungen auf die Überdauerung zu untersuchen. Mit dem Feldversuch V b fand unter einheitlicher Bodenbearbeitung eine Prüfung der genotypischen Variation der Überdauerungsneigung unter Praxisbedingungen statt.

In den Versuchen wurden konventionell gezüchtete und transgene Winterrapssorten eingesetzt. Die transgenen Sorten besitzen auf Grund des eingeführten *pat*-Gens (*pat*: Phosphinothricin-Acetyltransferase) Toleranz gegen das nicht-selektive Herbizid Basta[®] (Wirkstoff Glufosinat). Weiterhin enthält das Genom zusätzliche Sequenzen, die die Funktionsfähigkeit des *pat*-Gens regulieren.

Wegen der ungewissen Entwicklung im Gentechnikrecht im Rahmen der ‚Schwellenwertdiskussion‘ zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung war die Verwendung transgenen Materials nicht in allen Versuchsansätzen möglich. Um Auskreuzung von gentechnisch verändertem Raps und Rechtsansprüche Dritter auf Schadensregelung zu umgehen, wurde von Züchtern kein Saatgut für Versuche mit blühendem Raps im Freiland zur Verfügung gestellt. Somit war es entgegen der ursprünglichen Planung nicht möglich, einen transgenen Rapsbestand zu etablieren oder transgenen Durchwuchsraps aufwachsen zu lassen. Die vorliegenden Ergebnisse beruhen daher nur in Labor- und Vergrabungsversuchen auf transgenem Material. Versuche, bei denen es zu blühenden Rapsbeständen oder Einzelpflanzen kommen konnte, wurden mit nah-isogenen Sorten durchgeführt. Dabei wurde im Vorfeld unterstellt, dass der Vorgang der Transformation und das Insert selbst keinen Einfluss auf die Überdauerung haben. Eine Überprüfung dieser Hypothese erfolgte in den Labor- und Vergrabungsversuchen. Die Ergebnisse aus Feldversuchen mit nah-isogenen Sorten sollten modellhaft die Reaktionsmuster von Rapssamen im Boden aufzeigen, die auch auf weitere transgene und konventionell gezüchtete Sorten übertragen werden können.

7.1 Einfluss des Genotyps auf die Überdauerungsneigung

Die Prüfung des genotypischen Einflusses auf die Überdauerungsneigung von Rapssamen basiert auf drei experimentellen Ansätzen: Laborversuchen, Vergrabungsversuchen im Feld und Feldversuchen mit praxisnaher Bodenbearbeitung (Tabelle 6.1). Auf diesem Wege sollte eine schrittweise Annäherung der Methodik an die Praxisbedingungen stattfinden. Der folgende Abschnitt führt die Ergebnisse aus allen Versuchsansätzen differenziert nach konventionellen sowie transgenen und den jeweiligen nah-isogenen Sorten zusammen.

7.1.1 Konventionelle Rapssorten

Mit den Labor- und Vergrabungsversuchen wurde erstmals eine große Anzahl Winterrapssorten aus dem aktuellen deutschen Sortiment sowie verschiedene EU-Sorten geprüft. Bisherige Untersuchungen beschränkten sich entweder auf deutlich weniger Sorten, die mittler-

weile ohne Anbaubedeutung sind (PEKRUN 1994; SCHLINK 1994, 1995), oder es wurden englische (PEKRUN *et al.* 1997b) bzw. schwedische und chinesische Sorten (MOMOH *et al.* 2002) beschrieben. Somit bieten die vorgestellten Ergebnisse neben grundlegenden Aussagen zur Überdauerungsneigung von Raps und der genotypischen Variation dieses Merkmals auch eine aktuelle Orientierung für Züchter und Anbauer, in erster Linie aus Deutschland.

Innerhalb des geprüften Sortenspektrums konnte in allen Versuchsansätzen eine hohe **Variation** in der Höhe der sekundären Dormanz bzw. der Überdauerung im Boden festgestellt werden (Tabelle 6.2).

Tabelle 6.2: Variation der sekundären Dormanz in Laborversuchen und der Überdauerung von Samen in Vergrabungs- und Feldversuchen bei konventionell gezüchteten Winterrapsorten; alle Sorten eines Erntejahres vom gleichen Standort

Versuch	Jahr	Material (konventionell)	dormante bzw. überdauernde Samen (%)
Labor			
I a	2001	Sortiment	13–76 (Dormanz, 20 Sorten)
I a	2002	Sortiment	3–76 (Dormanz, 32 Sorten)
I b	2002	Sorten aus Versuch V b	19–67 (Dormanz, 4 Sorten)
Vergrabung			
III	2001/2002	Sortiment	34–90 (Überdauerung, 20 Sorten)
III	2002/2003	Sortiment	7–68 (Überdauerung, 32 Sorten)
Feld			
V b	2002/2003	4 Sorten (2 nah-isogene)	0–11 (Überdauerung, 4 Sorten)

Die aufgeführten Werte zur Dormanz schließen in geringen Anteilen (meistens unter 3 %) primäre Dormanz ein. Da jedoch der weitaus überwiegende Anteil der Dormanz im Labor induziert wurde, wird vereinfachend der Ausdruck ‚sekundäre Dormanz‘ anstelle von ‚gesamte Dormanz‘ (primär plus sekundär) verwendet.

Im Labor (Versuche I a und I b) ließen sich sowohl Sorten mit hoher als auch Sorten mit gering ausgeprägter sekundärer Dormanz identifizieren. Auch bei den Überdauerungsraten im Vergrabungs- und Feldversuch (III und V b) lagen große Sortenunterschiede vor. Ein direkter Vergleich der Ergebnisse der Sortimente beider Erntejahre ist in Versuch I a und III nur für 19 in beiden Jahren geerntete Sorten möglich, da das Prüfsortiment im Jahr 2002 erweitert wurde.

Das Auffinden von Sortenunterschieden ist nicht unerwartet, da diese Beobachtung auch grundsätzlich aus anderen Studien zu Raps vorliegt (PEKRUN 1994; SCHLINK 1994, 1995; PEKRUN *et al.* 1997b; MOMOH *et al.* 2002). Erstmals wird mit der vorliegenden Arbeit beschrieben, dass sich die Neigung zur sekundären Dormanz von Rapsorten im Laborversuch auch im folgenden Erntejahr durch eine signifikante Korrelation bestätigte. Das Ausmaß der

Fähigkeit zur Ausbildung sekundärer Dormanz bei Raps scheint daher in einem hohen Maß genotypisch bedingt zu sein, wenn auch ein deutlicher Umwelteinfluss vorlag. Für eine abschließende, einheitliche Bewertung des Sortencharakters müssten die auftretenden Umwelteffekte über eine Verrechnung von mehreren Versuchsjahren und Standorten berücksichtigt werden. GULDEN *et al.* (2004) beschreiben den Anteil des Genotyps an der gesamten Variation sekundärer Dormanz bei Raps (Canola) mit 44 bis 82 %. Damit fügen sich die in der vorliegenden Arbeit vorgestellten Ergebnisse in die bereits für Raps und für andere Spezies bekannten Beobachtungen ein und bestätigen die Hypothese, dass das Potenzial für die Entwicklung sekundärer Dormanz teilweise genetisch bedingt ist.

Insgesamt waren im Sortiment von GULDEN *et al.* (2004) verglichen mit den eigenen Daten überwiegend Genotypen mit hoher Neigung zu sekundärer Dormanz vertreten (74 bis 90 % sekundäre Dormanz). Diese Beobachtung könnte sich darauf zurückführen lassen, dass die Autoren mit **Sommerformen** (Canola) gearbeitet haben, während die Daten der vorliegenden Arbeit auf **Winterformen** (Winterraps) beruhen. Sommerformen könnten in ausgeprägterem Maße sekundäre Dormanz entwickeln, um nach der Reife den Zeitraum bis zur Etablierung unter optimalen Bedingungen im Frühjahr ungekeimt zu überbrücken. Eigene Versuche mit sechs Sommerrapsorten haben ebenfalls ein vergleichsweise hohes Potenzial für sekundäre Dormanz gezeigt (GRUBER, unveröffentlicht). Aus den Ergebnissen von PEKRUN *et al.* (1997b) und MOMOH *et al.* (2002), die sowohl Sommer- als auch Winterraps einschließen, lässt sich diese Hypothese nicht ableiten. Da beiden Studien sowie den Versuchen von GULDEN *et al.* (2004) längere Induktionsphasen für die Dormanz zu Grunde liegen als den eigenen Arbeiten (vier Wochen; eigene Versuche: zwei Wochen), kann die absolute Höhe der Dormanz in den zitierten Arbeiten auch auf die Methode zurückzuführen sein. Auch wenn Sommerraps derzeit in Deutschland kaum Anbaubedeutung hat, würde im Anschluss an diese Arbeiten ein Vergleich von Sommer- und Wintertypen weiteren Aufschluss über die Entstehung von sekundärer Dormanz bei Raps geben.

Ein anderer, neuer Aspekt dieser Arbeit ist der direkte **Vergleich** von Daten aus Laborversuchen (I a) mit denen aus Vergrabungsversuchen (III). Die signifikante Korrelation zwischen im Labor induzierter Dormanz und tatsächlicher Überdauerung in den Vergrabungsversuchen, die sich auch im Versuchsjahr 2003/2004 bestätigte (GRUBER, unveröffentlicht), lässt darauf schließen, dass mit beiden Versuchsansätzen grundsätzlich das gleiche Phänomen erfasst wird. Laborversuche mit künstlicher Induktion sekundärer Dormanz sind daher geeignet, die

tatsächliche Überdauerungsneigung im Feld zu schätzen, und stellen gegenüber Vergrabungsversuchen eine zeit- und kostengünstige Alternative zum Screening von Sorten dar.

Der Anteil überdauernder Samen im Vergrabungsversuch (III) war nach sechsmonatigem Verbleib der Samen im Boden in der Regel höher als der Anteil sekundär dormanter Samen nach zweiwöchiger Dormanzinduktion im Labor (Versuch I a). Hier kann die Dauer der Induktionsphase für Unterschiede zwischen den Versuchen entscheidend gewesen sein. Die Überdauerung von Samen aus Ausfallverlusten im Feldversuch unter Einwirkung von Bodenbearbeitung (V b) über ebenfalls sechs Monate war dagegen deutlich geringer als in den beiden genannten Versuchen. Die Rangfolge der Sorten untereinander in der Höhe der sekundären Dormanz bzw. Überdauerung war jedoch in allen drei Ansätzen gleich.

Bei den praxisnahen Feldversuchen dürften gegenüber den Labor- und Vergrabungsversuchen Faktoren hinzugekommen sein, die die Überdauerung eingeschränkt haben. Während die Samen in den Vergrabungsexperimenten auf einer konstanten Tiefe von 10 cm abgelegt wurden, konnten die ausgefallenen Samen unter der Einwirkung von Bodenbearbeitung in unterschiedliche Bodentiefen von 0 bis ca. 25 cm gelangen. Dadurch waren Unterschiede in der Intensität möglich, mit der Dormanz induzierende Faktoren, in erster Linie niedriges osmotisches Potenzial unter Lichtausschluss, einwirken konnten. Die **Bodenfeuchte** war in der ersten Zeit nach dem Eintrag der Samen in den Vergrabungsversuchen konstant niedrig, da die Versuchsfläche über einen gewissen Zeitraum vor und nach der Einbringung der Samen mit einer Überdachung vor Niederschlägen geschützt wurde. Die Samen aus dem Feldversuch dagegen gelangten in einen Boden mit natürlicher Feuchte und waren von Beginn an möglichen Niederschlägen ausgesetzt. Eine geringere Ausprägung sekundärer Dormanz und Überdauerung im Feldversuch gegenüber den Vergrabungsexperimenten ist daher plausibel.

Unter praxisnahen Feldbedingungen können zusätzliche **Verluste** durch Organismen auf oder im Boden aufgetreten sein. Während in den Vergrabungsversuchen die in Stoff eingeschlossenen Samen nur der Mikroflora und -fauna zugänglich waren, konnte die Samenmenge im Feldversuch zusätzlich durch Fraß von größeren Tieren reduziert werden. Auch wenn für Raps bisher keine gezielten Untersuchungen zu Fraßverlusten oder Verlusten durch Schaderreger vorliegen, weisen Studien mit Samen anderer Pflanzenarten auf potenzielle Schädigungen durch Laufkäfer, Mäuse und Vögel hin (BRUST & HOUSE 1988; LUTMAN *et al.* 2002; HONEK & MARTINKOVA 2003; WESTERMAN *et al.* 2003).

Besonders bei Sorten, die in erhöhtem Maße zu sekundärer Dormanz neigten, wies ein meist geringer Anteil des erntefrischen Saatguts **primäre Dormanz** auf. Möglicherweise gibt der

verzögerte Abbau primärer Dormanz während der Samenreife in Sorten mit später hoher sekundärer Dormanz Hinweise auf einen gemeinsamen physiologischen Hintergrund. Es bleibt offen, ob eine züchterische Bearbeitung mit dem Ziel, die sekundäre Dormanz zu reduzieren, ein erhöhtes Risiko für Auswuchs auf der Mutterpflanze bedeutet, falls primäre Dormanz dann ebenfalls nicht mehr in der ursprünglichen Ausprägung entwickelt würde.

Weder im Labor noch im Vergrabungsversuch wurden Sorten identifiziert, die keinerlei sekundäre Dormanz oder Überdauerungsfähigkeit aufwiesen. Bei einer Sorte im Versuch V b wurde nur aus methodischen Gründen kein Bodensamenvorrat gefunden. In Laborstudien mit vergleichbar umfangreichem Sortenspektrum sind von MOMOH *et al.* (2002) auch Sorten ohne jegliche Neigung zur Dormanz beschrieben worden. Diese Beobachtung könnte jedoch auf das Alter der dort untersuchten Samen zurückzuführen sein, da Samen mit der Alterung die Fähigkeit zur Ausbildung sekundärer Dormanz verlieren (Kapitel 3; PEKRUN 1994; SCHLINK 1995). Bei den Untersuchungen von PEKRUN *et al.* 1997b wurden in einem größeren Sortiment genau wie in der vorliegenden Arbeit keine Sorten ohne Neigung zu sekundärer Dormanz gefunden.

Bei Untersuchungen an Einzelpflanzen (GRUBER & CLAUPEIN 2004) zeigte sich, dass innerhalb einer Sorte mit hohen Anteilen potenziell dormanter Samen (rund 60 % dormante Samen/lebensfähige Samen) Genotypen mit deutlich unterschiedlicher Neigung zur Dormanz vertreten waren. Der Anteil potenziell dormanter Samen einer Sorte scheint sich demzufolge aus der Summe der Anteile potenziell dormanter Samen aller Einzelpflanzen zusammensetzen. Das legt den Schluss nahe, dass auch innerhalb weiterer, ‚hoch dormanter‘ Sorten Einzelpflanzen mit Samen ohne Neigung zu sekundärer Dormanz auftreten könnten, die geeignet wären, Sorten ganz ohne Neigung zu sekundärer Dormanz aufzubauen. Sorten mit nur geringer Neigung zu sekundärer Dormanz, wie sie bereits im aktuellen Sortiment vorliegen, bieten sich besonders als Ausgangsmaterial für weitere züchterische Arbeit mit dem Zuchtziel ‚geringe Überdauerungsfähigkeit‘ an. Diese identifizierten Sorten lassen bereits jetzt beim Anbau weniger pflanzenbauliche Probleme auf Grund von Durchwuchs in den Folgefrüchten erwarten als hoch überdauerungsfähige Sorten.

Folgende zentrale Aussagen lassen sich aus der Diskussion der Ergebnisse treffen:

- Die Ausbildung sekundärer Dormanz bei Raps hat einen genetischen Hintergrund.

- Für die Überdauerungsneigung bei Raps liegt eine große genotypische Variation vor. Bestimmte Rapssorten neigen nur in sehr begrenztem Umfang zu sekundärer Dormanz und Samenüberdauerung.
- Über eine künstliche Dormanzinduktion im Labor kann auf die Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen unter Feldbedingungen geschlossen werden.

7.1.2 Transgene Rapssorten

In Labor- und Vergrabungsversuchen zeigte sich auch zwischen transgenen Sorten eine deutliche **Variation** der Höhe der sekundären Dormanz und der Überdauerung im Boden (Tabelle 6.3). Damit reagierten die gentechnisch veränderten Sorten ähnlich wie konventionelle Sorten.

Tabelle 6.3: Variation der sekundären Dormanz in Laborversuchen sowie der Überdauerung von Samen in Vergrabungsversuchen bei drei transgenen Winterrapssorten unterschiedlicher Herkunft

Versuch	Jahr	Material (transgen)	dormante bzw. überdauernde Samen (%)
Labor			
II	2001	Sortimente	1–31 (Dormanz, 5 Herkünfte)
Vergrabung			
IV	2001/2002	Sortimente	12–79 (Überdauerung, 4 Herkünfte)
IV	2002/2003	Sortimente	46–67 (Überdauerung, 3 Herkünfte)

Aus diesen Ergebnissen ist zunächst zu schließen, dass die Einführung von Gensequenzen zur Expression von Herbizidtoleranz keine direkte Auswirkung auf die Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen hatte. Bei einem unterstellten, direkten Effekt dieses **Inserts** auf die Überdauerung wäre ein relativ einheitliches Niveau der sekundären Dormanz und Überdauerung bei allen Sorten, die das Gen tragen, zu erwarten gewesen. Eine sichere Aussage über den Einfluss des Inserts oder über mögliche Positionseffekte der eingefügten Sequenzen im Genom lässt sich jedoch nur über den direkten Vergleich einer transgenen mit der jeweiligen nah-isogenen Sorte treffen. Dabei könnten die beobachteten, zum Teil signifikanten Unterschiede zwischen transgener Sorte und nah-isogenem Pendant entgegen der oben genannten Interpretation durchaus als Hinweis auf einen Einfluss der Transformation gewertet werden. Da im Laborversuch die sekundäre Dormanz bei den transgenen Sorten meistens geringer war als bei den nah-isogenen Sorten, wäre der hier vorliegende Effekt im Sinne einer Sicherheits-

bewertung mit Vorteilen verbunden, wenn eine geringere Überdauerung von transgenen Sorten eine erwünschte Eigenschaft darstellt.

Die Ergebnisse der Laborversuche beim Vergleich transgener und nah-isogener Sorten ließen sich in den Vergrabungsversuchen nicht bestätigen, sondern die Sorten verhielten sich hier über zwei Versuchsjahre hinweg uneinheitlich.

Da keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der sekundären Dormanz bzw. Überdauerung vorlagen, wenn transgene und nah-isogene Sorte vom selben Standort und Erntejahr stammten, liegt den aufgefundenen Unterschieden zwischen transgenen und nah-isogenen Sorten vermutlich ein anderer Kausalzusammenhang zu Grunde. Naheliegend ist, dass die **Umweltbedingungen** während der Samenentwicklung und -reife einen Einfluss auf die Disposition zu sekundärer Dormanz hatten. Dafür spricht, dass die konventionelle Sorte Artus auf zwei verschiedenen Standorten signifikant unterschiedliche Anteile sekundär dormanter Samen entwickelte. Weitere, bisher unveröffentlichte Ergebnisse aus eigenen Untersuchungen mit konventionellen Rapssorten verschiedener Herkünfte stützen die Hypothese eines Effekts der Umwelt vor der Ernte auf die Höhe der späteren sekundären Dormanz.

Zusätzlich zu den unterschiedlichen Umweltbedingungen während der Reife kann das unterschiedliche **Alter** der Samen einen Effekt auf die Ausbildung sekundärer Dormanz gehabt haben, da die Fähigkeit zur Ausbildung sekundärer Dormanz mit der Samenalterung sinkt (Kapitel 3).

Für eine Abwägung, ob die hier vorliegende gentechnische Veränderung einen Einfluss auf die Überdauerungsneigung hat, soll folgende Zusammenstellung der Argumente dienen:

Argumente für einen bestehenden Einfluss der gentechnischen Veränderung auf die Überdauerungsneigung:

- Zwischen transgenen Sorten und den nah-isogenen Pendants waren teilweise signifikante Unterschiede vorhanden.

Argumente gegen einen bestehenden Einfluss der gentechnischen Veränderung auf die Überdauerungsneigung:

- Zwischen verschiedenen transgenen Sorten lagen Unterschiede in der Höhe der sekundären Dormanz vor, obwohl die Sorten dieselbe gentechnische Veränderung trugen.

- Keine signifikanten Unterschiede traten zwischen transgener und nah-isogener Sorte derselben Herkunft auf.
- Bei der Prüfung zweier Herkünfte derselben Sorte traten signifikante Unterschiede in der sekundären Dormanz auf.
- Bei der Transformation können zufällig Typen mit vom nah-isogenen Sortenmittel abweichender Neigung zu sekundärer Dormanz aus einer bezogen auf dieses Merkmal heterogenen Sorte gewählt worden sein. Bei den transgenen Sorten läge somit eine genetische Einengung vor.

Aus den vorliegenden Ergebnissen wird insgesamt geschlossen, dass die Einführung des *pat*-Gens zur Codierung von Toleranz gegen das Herbizid Basta[®] (Glufosinat) sowie die Einführung weiterer, für die Funktionsfähigkeit dieses Gens notwendiger Gensequenzen keinen Einfluss auf die Samenüberdauerung von Raps hat. Daher lassen sich grundlegende Ergebnisse, die für die Überdauerungsneigung von konventionellen und insbesondere von nah-isogenen Sorten vorliegen, auf die hier untersuchten transgenen Sorten übertragen.

Einflüsse durch andere gentechnische Veränderungen sind damit nicht generell auszuschließen. Ist beispielsweise die Produktion von Inhaltsstoffen, die als Repellent oder Attractant wirken, gentechnisch verändert, könnte eine gegenüber der nah-isogenen Linie oder anderen Vergleichssorten abweichende Überdauerung die Folge sein (CRAWLEY *et al.* 1993; LINDER & SCHMITT 1995; BOOTH *et al.* 1996; LINDER 1998; WALKER *et al.* 2000). Diese veränderte Reaktion wäre jedoch nicht zwangsläufig auf den Einsatz gentechnischer Verfahren zurückzuführen, sondern kann allein durch die Art der Veränderung und des neuen Inhaltsstoffes bedingt sein, die auch im Zuge konventioneller Züchtung möglich ist. Rückschlüsse vom Sortentyp (Linien- oder Hybridsorte) oder der jeweiligen Generation der Hybridsorten Avalon^{LL} und Artus auf die Höhe der sekundären Dormanz, wie HOMMEL & PALLUT (2004) sie ziehen, sind vorstellbar, können aus den vorliegenden Ergebnissen jedoch nicht abgeleitet werden.

Das absolute Niveau der sekundären Dormanz der transgenen Sorten lässt sich auf Grund möglicher Einflüsse durch Überlagerung des Saatguts, unterschiedliche Erntejahre und Herkunft nicht abschließend beschreiben.

Folgende zentrale Aussagen lassen sich aus der Diskussion der Ergebnisse treffen:

- Die Einführung des *pat*-Gens und dazugehöriger, für die Insertion und Expression nötigen Gensequenzen führen zu keiner veränderten sekundären Dormanz von Rapssamen.
- Die für konventionell gezüchtete Sorten beobachteten Mechanismen der Überdauerungsneigung können modellhaft auf die in der vorliegenden Arbeit geprüften transgenen Sorten übertragen werden.

7.2 Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Überdauerungsneigung

Nach der Ernte eines Kulturpflanzenbestandes wird häufig zunächst eine flache **Stoppelbearbeitung** durchgeführt, um Erntereste in den Boden einzuarbeiten und die Umsetzung des organischen Materials zu fördern. Die Lockerung der obersten Bodenschicht führt dabei zu einer Verminderung der Evaporation und erleichtert das Eindringen von Niederschlägen, die nach der Sommertrockenheit für die Etablierung einer Folgekultur oder Zwischenfrucht zur Verfügung stehen sollen. Viele Unkrautsamen oder ausgefallene Kulturpflanzensamen werden durch Stoppelbearbeitung zum Keimen angeregt und können später durch mechanische oder chemische Unkrautregulierung beseitigt werden.

Mit einer **Grundbodenbearbeitung** erfolgt eine tiefgreifende Lockerung des Bodens. Sie soll in erster Linie ein günstiges Bodengefüge für das Wachstum der Kulturpflanzen schaffen und die Verfügbarkeit der Wachstumsfaktoren erhöhen. Organische Rückstände, perennierende und neu gekeimte Unkräuter sowie Unkrautsamen werden durch Grundbodenbearbeitung überwiegend in tiefere Bodenschichten verlagert, wo sie der Zersetzung unterliegen können. Je nach Häufigkeit, Tiefe und eingesetztem Bearbeitungsgerät sind Stoppel- und Grundbodenbearbeitung durch unterschiedliche Intensität gekennzeichnet. Auswirkungen auf das Pflanzenwachstum und die Bodeneigenschaften sind in kurz-, mittel- und langfristigen Zeiträumen zu erwarten.

In den durchgeführten Versuchen wurden sowohl Verfahren der Stoppel- als auch der Grundbodenbearbeitung angewandt. Zwei **Versuchsansätze** mit unterschiedlicher Art und Menge des Sameneintrags bildeten die Grundlage für die Prüfung des Effekts von Bodenbearbeitung auf die Überdauerungsneigung von Rapssamen (Tabelle 6.1). Im ersten Ansatz (Versuch V a, künstliche Ausfallverluste) wurden Rapssamen gezielt auf eine Getreidestoppel ausgestreut. Damit sind eine definierte Samenmenge und deren gleichmäßige Verteilung über die Fläche gewährleistet. Der zweite Ansatz (Versuch V c, Praxis-Ausfallverluste) basierte auf Samen,

die bei der Rapsernte tatsächlich als Verluste ausgefallen waren. Hier war die eingetragene Samenmenge zunächst unbekannt und wurde nach der Ernte als einheitlicher Mittelwert über die gesamte Fläche erhoben, wobei in der Realität von einer uneinheitlichen Verteilung der Samen über die Fläche auszugehen ist. Die Bodenbedingungen, z.B. das Vorkommen von Mikroorganismen oder die Menge und Verteilung organischen Materials, waren hier durch den vorherigen Anbau von Raps praxisgemäß.

Der Einfluss der Bodenbearbeitung wurde in vier unterschiedlich intensiven Varianten geprüft. In zwei der Varianten (1 und 3) erfolgte unverzüglich nach dem Sameneintrag eine Stoppelbearbeitung mit einer Dyna-Drive. In Variante 1 wurde die spätere Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug, in Variante 3 mit dem Grubber vorgenommen. Variante 2 wurde ebenfalls zur Grundbodenbearbeitung gepflügt, doch hatte die vorherige Stoppelbearbeitung erst vier Wochen nach dem Sameneintrag stattgefunden. Variante 4 war eine Direktsaatvariante ohne Bodenbearbeitung.

Die beobachteten Unterschiede im Bodensamenvorrat und in der Anzahl von Durchwuchsrapssamen im ersten Folgejahr in Winterweizen weisen auf Effekte der Bodenbearbeitung auf die Überdauerung der Rapssamen hin (Tabellen 7.4 und 7.5).

Tabelle 6.4: Bodensamenvorrat von Raps (in % des Sameneintrags) unter Winterweizen, sechs Monate nach dem Sameneintrag als Effekt von Bodenbearbeitung in vier Varianten. Durchschnittliche Menge eingetragener Samen m^{-2} in V a: 10.000, in V c: 1.300

Versuch	Jahr	Sorte	Bodenbearbeitungsvariante*			
			1	2	3	4
			Bodensamenvorrat (%)			
V a	2001/2002	Artus	4,2	1,5	9,8	0,0
		Liberator	0,8	0,0	1,9	0,0
V a	2002/2003	Artus	7,9	0,4	3,8	1,5
		Liberator	9,8	0,0	14,0	0,8
V c	2002/2003	Liberator	28,5	2,9	14,3	17,1

* 1: Stoppelbearbeitung unverzüglich, Grundbodenbearbeitung Pflug; 2: Stoppelbearbeitung 4 Wochen verzögert, Grundbodenbearbeitung Pflug; 3: Stoppelbearbeitung unverzüglich, Grundbodenbearbeitung Grubber; 4: keine Bodenbearbeitung, Direktsaat

Tabelle 6.5: Blühender Durchwuchsrap (maximale Pflanzenzahl m⁻²) in Winterweizen im ersten Jahr nach dem Sameneintrag als Effekt von Bodenbearbeitung in vier Varianten. Durchschnittliche Menge eingetragener Samen m⁻² in V a: 10.000, in V c: 1.300

Versuch	Jahr	Sorte	Bodenbearbeitungsvariante*			
			1	2	3	4
			Blühende Durchwuchspflanzen m ⁻²			
V a	2001/2002	Artus	0,0	0,0	0,1	0,3
		Liberator	0,0	0,0	0,0	0,1
V a	2002/2003	Artus	0,1	0,0	0,3	0,0
		Liberator	0,2	0,0	1,0	0,1
V c	2002/2003	Liberator	0,2	0,1	0,7	0,7

* 1: Stoppelbearbeitung unverzüglich, Grundbodenbearbeitung Pflug; 2: Stoppelbearbeitung 4 Wochen verzögert, Grundbodenbearbeitung Pflug; 3: Stoppelbearbeitung unverzüglich, Grundbodenbearbeitung Grubber; 4: keine Bodenbearbeitung, Direktsaat

7.2.1 Stoppelbearbeitung

Ein für die landwirtschaftliche Praxis empfohlenes Verfahren zur Bekämpfung von Durchwuchs ist, das Auflaufen von Ausfallsamen von Kulturpflanzen durch flache Stoppelbearbeitung zu fördern (KÖLLER 2003). Die zu Grunde liegende Hypothese besagt, dass durch die so herbeigeführte Schaffung eines geeigneten Saatbettes Ausfallsamen zunächst keimen und somit dem Bodensamenvorrat entzogen sind. Eine mechanische oder chemische Pflanzenschutzmaßnahme soll anschließend den unerwünschten Aufwuchs beseitigen, bevor der nächste Kulturbestand gesät wird. Dieses Verfahren ist wirkungsvoll, wenn die Ausfallsamen zu diesem Zeitpunkt weder dormant sind noch später in großem Umfang zur Ausbildung sekundärer Dormanz fähig sind. Für Ausfallrap, der unter bestimmten Umweltbedingungen sekundäre Dormanz ausbildet, ist diese Strategie zu überprüfen.

In der Regel hatte sich ein halbes Jahr nach dem Sameneintrag in den Varianten, bei denen eine sofortige Einarbeitung der Samen durch Stoppelbearbeitung erfolgt war (1 und 3), ein größerer **Bodensamenvorrat** aufgebaut als in den Varianten, in denen Stoppelbearbeitung verzögert oder gar nicht durchgeführt wurde (2 und 4). Dieselben Zusammenhänge fand PEKRUN (2003) bei Versuchen in England, Österreich und Deutschland. Hier sind offenbar Bedingungen geschaffen worden, die **sekundäre Dormanz** induzierten und zum vermehrten Aufbau eines Bodensamenvorrats geführt haben. Das bei Raps für eine Induktion von Dormanz vorrangig erforderliche niedrige osmotische Potenzial des umgebenden Mediums bei Lichtausschluss (Pekrun 1994; SCHLINK 1994; PEKRUN *et al.* 1997a; PEKRUN *et al.* 1998) lag vermutlich in besonderem Maße und zu einem für die Samen kritischen Zeitpunkt vor,

wenn die Einarbeitung der Samen frühzeitig erfolgte. Diese Samen waren zudem den Dormanz induzierenden Faktoren länger ausgesetzt als Samen, die erst vier Wochen später eingearbeitet wurden. Da im Labor der Anteil dormanter Samen mit der Dauer der Induktionsphase steigt (PEKRUN 1994), ist eine höhere Ausprägung sekundärer Dormanz bei rascher Einarbeitung wahrscheinlich. Unterstützt wird der Effekt durch die alterungsbedingte Abnahme der Fähigkeit von Rapssamen, sekundäre Dormanz auszubilden (Kapitel 3; PEKRUN 1994; SCHLINK 1995). Samen, die erst vier Wochen nach der Ernte den kritischen Faktoren ausgesetzt werden, wären demnach von vornherein weniger zu sekundärer Dormanz disponiert.

Der relativ große Bodensamenvorrat in der Direktsaatvariante nach Praxis-Ausfallverlusten (Versuch V c, Variante 4) widerspricht zunächst der Hypothese, dass Samen, die nicht unverzüglich eingearbeitet werden, weniger Dormanz ausbilden. In diesem Fall müssen auch ohne Einarbeitung der Samen Bedingungen vorgelegen haben, die Dormanz induzierten und das Überdauern eines vergleichsweise großen Anteils der eingetragenen Samen ermöglichten. Eine Erklärung für den Aufbau eines Bodensamenvorrats im beschriebenen Umfang kann die Bedeckung des Bodens mit Rapsstroh sein, das nur in Versuch V c bei der Ernte anfiel. Unter dieser **Mulchschicht** könnten die nicht eingearbeiteten Samen auf Grund von Beschattung und niedrigem osmotischen Potenzial des umgebenden Materials ebenfalls sekundär dormant geworden sein und überdauert haben. Ähnliche Erfahrungen liegen aus Kanada vor, wo in Direktsaatssystemen häufig Durchwuchs von Canola beobachtet wurde (LÉGÈRE *et al.* 2001; SIMARD *et al.* 2002). Dort allerdings könnten auch die schnell absinkenden Temperaturen im Herbst und tiefe Temperaturen im Winter Ursachen für ein Ausbleiben der sofortigen Keimung und für die Überdauerung von Samen sein.

Der überwiegende Teil der auf die Fläche eingetragenen Samen oder daraus auflaufender Keimlinge unterlag vor allem nach verzögerter Stoppelbearbeitung und Direktsaat (Varianten 2 und 4) nicht direkt erfassten **Verlusten**. Mögliche Ursache für diese Samenverluste könnten fatale Keimung, Schädlingsbefall oder ungünstige Witterungseinflüsse gewesen sein. Fatale Keimung, d.h. Keimung mit anschließendem Absterben des Keimlings, der die Bodenoberfläche nicht erreichen kann, ist bei der eher flachen Verlagerung von Samen bei Stoppelbearbeitung in Tiefen von 0 bis ca. 10 cm vermutlich nicht der hauptsächliche Verlustfaktor, da Rapssamen aus diesen Tiefen relativ gut auflaufen (SCHLINK 1995). Krankheits- und Schädlingsbefall an Samen oder Keimlingen wurden nicht gezielt untersucht. Es ist jedoch wahrscheinlich, dass besonders Samen, die lange an der Oberfläche liegen, durch Fraß von

Vögeln, Mäusen oder Käfern (BRUST & HOUSE 1988; LUTMAN *et al.* 2002; HONEK & MARTINKOVA 2003; WESTERMAN *et al.* 2003) zerstört wurden.

Aus dem ersten Versuchsjahr liegen durch das Auffinden leerer Samenschalen Hinweise darauf vor, dass Rapssamen nach dem Ankeimen wieder vertrocknet sind. Dazu könnten Schwankungen der Feuchtigkeitsverhältnisse durch geringfügige Niederschläge mit anschließendem Vertrocknen nach Ausbleiben weiterer Wasserzufuhr geführt haben.

Durch eine längere Verweildauer der Samen auf oder nahe der Bodenoberfläche wäre eine gesteigerte Exposition den Verlustfaktoren gegenüber zu erwarten. Da bereits bei der regulären Aussaat von Raps von einem Feldaufgang von rund 70 % (Normalsaat, CRAMER 1990) bzw. 60 bis 90 % (AUFHAMMER 1998), das heißt von bis zu 40 % Verlust ausgegangen wird, sind die in den Versuchen ermittelten Verluste von bis zu 85 % bei ungereinigtem und ungebeiztem Samenmaterial, das in eine verglichen mit einem Saatbett wenig geeignete Umwelt eingebracht wurde, in der aufgefundenen Größenordnung plausibel.

Ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe des Auflaufens von Ausfallraps im Herbst und dem Umfang des späteren Bodensamenvorrats geht aus den Ergebnissen nicht hervor, wie von PEKRUN (2003) ebenfalls beschrieben wurde. Eine frühzeitige Einarbeitung von Rapssamen in den Boden förderte vielmehr den Aufbau eines Bodensamenvorrats. Entgegen dem in der **Praxis** vielfach üblichen Verfahren kann Stoppelbearbeitung daher nicht generell zur Reduzierung des Bodensamenvorrats von Raps empfohlen werden.

Bei geringen Niederschlägen nach der Rapsernte oder auf Böden mit geringer Wasserkapazität kann es für die Konservierung der Restfeuchte und die Herstellung einer geeigneten Bodenstruktur für die Folgefrucht erforderlich sein, eine Rapsstoppel so rasch wie möglich zu bearbeiten. Obwohl aus den vorliegenden Ergebnissen nicht abgeleitet werden kann, welche die optimale Verweildauer von Samen auf unbearbeitetem Boden ist, um nicht in den Bodensamenvorrats einzugehen, sollte mit der Durchführung der Stoppelbearbeitung so lange abgewartet werden, wie es nach guter fachlicher Praxis vertretbar ist. Die Bearbeitung selber sollte so flach wie möglich erfolgen, um die Samen Licht und Feuchtigkeit auch durch leichte Niederschläge auszusetzen und damit einer Induktion von sekundärer Dormanz entgegenzuwirken. Die Übertragbarkeit der vorliegenden Ergebnisse auf Regionen mit anderen Bodenarten und anderen Niederschlagsverhältnissen oder auf Bodenbearbeitung mit anderen Geräten und Bearbeitungstiefen bleibt zu prüfen.

Folgende zentrale Aussagen lassen sich aus der Diskussion der Ergebnisse treffen:

- Eine schnelle Einarbeitung von Rapssamen aus Ausfallverlusten bei der Ernte fördert die Induktion sekundärer Dormanz und den Aufbau eines Bodensamenvorrats.
- Verzögerte Stoppelbearbeitung vermindert die Induktion sekundärer Dormanz und setzt die Samen vermehrt biotischen und abiotischen Verlustfaktoren aus, so dass nur ein geringer Bodensamenvorrat aufgebaut wird.
- Direktsaat schafft durch die Strohaufgabe geeignete Bedingungen für die Überdauerung von Samen, die sich auf oder nahe der Bodenoberfläche befinden, so dass der Aufbau eines Bodensamenvorrats möglich ist.

7.2.2 Grundbodenbearbeitung

In den Versuchen V a und V c wurden zur Grundbodenbearbeitung Verfahren unterschiedlicher **Intensität** eingesetzt: tiefe, wendende Bodenbearbeitung mit dem Pflug und weniger tiefe, lockernd-mischende Bodenbearbeitung mit dem Grubber. Diesen beiden Bewirtschaftungsverfahren stand als drittes Verfahren die Direktsaat mit Unterlassung jeglicher vorheriger Bodenbearbeitung gegenüber. Erntereste oder Samen, die sich auf der Bodenoberfläche befinden, werden durch diese Verfahren unterschiedlich tief verlagert (PEKRUN *et al.* 2003; COUSENS & MOSS 1990; ROGER-ESTRADE *et al.* 2001).

Der geringste **Bodensamenvorrat** hat sich in allen Versuchen und Versuchsjahren stets nach verzögerter Stoppelbearbeitung verbunden mit einer späteren Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug ausgebildet (Variante 2). Ähnliche Beobachtungen liegen von PEKRUN (2003) aus mehrjährigen Versuchen an verschiedenen Standorten vor. Neben dem Einfluss des Zeitpunkts der Stoppelbearbeitung (Abschnitt 7.2.1) liefert die Durchführung oder Unterlassung einer zweiten, tiefen Bearbeitung offenbar den nächsten Impuls für den Aufbau oder Erhalt eines Samenvorrats. Wäre die Grundbodenbearbeitung ohne weiteren Einfluss auf die Überdauerungsfähigkeit der Samen, müsste in der Direktsaatvariante (Variante 4) in allen Versuchen der geringste Bodensamenvorrat aufzufinden sein, da hier die Samen am längsten unberührt auf der Bodenoberfläche lagen; der Bodensamenvorrat war jedoch mindestens ebenso groß wie in Variante 2. Vermutlich wurden bei verzögerter Stoppelbearbeitung in Variante 2 nur wenig Samen sekundär dormant, so dass viele ungekeimte, nicht-dormante Samen durch

fatale Keimung zu Grunde gingen, nachdem sie mit dem Pflug tief eingearbeitet worden waren und günstige Keimbedingungen vorgefunden hatten.

Im ersten Versuchsjahr mit künstlichen Ausfallverlusten (Versuch V a) befand sich ein halbes Jahr nach dem Sameneintrag der größte Anteil des Bodensamenvorrats sowohl nach Pflug- als auch nach Grubberbearbeitung in einer Tiefe zwischen 0 und 10 cm. Ein differenzierender Effekt der beiden Bearbeitungsgeräte auf die **Tiefenverlagerung** war nicht sicher auszumachen. Dagegen waren im zweiten Versuchsjahr des Versuchs V a und im Versuch V c die Samen mit Grubber und Pflug unterschiedlich tief verlagert worden. Nach dem Pflügen lag der größte Teil des Bodensamenvorrats in einer Tiefe zwischen 10 und 20 cm vor, während nach dem Grubbern und nach Direktsaat die Samen überwiegend zwischen 0 und 10 cm Tiefe gefunden wurden. Offenbar hat der Pflug durch die Inversion der Schichten eine Verlagerung des Materials von der Bodenoberfläche in die Tiefe vorgenommen, während beim Grubber die Bodenlockerung mit einem mischenden Effekt in der obersten Bodenschicht überwog. Diese Verteilung entspricht den bekannten Mustern, die in verschiedenen Studien beschrieben sind (Abschnitt 1.4).

Konsequenzen hat diese Verteilung des Bodensamenvorrats vor allem auf den späteren Abbau der Dormanz sowie auf erfolgreiche Keimung und Etablierung von Durchwuchsrap. Die optimale Saattiefe für Raps liegt bei 1 bis 2 cm, doch noch bis zu einer Tiefe von ca. 6 cm ist ein Auflaufen der Rapssaat ohne größere Einschränkungen möglich (SCHLINK 1995). Tiefer abgelegte Samen sind einem steigenden Risiko der fatalen Keimung ausgesetzt. Wenn eingetragene Samen durch nicht-wendende Bodenbearbeitung, zum Beispiel mit dem Grubber, vermehrt in oberen Bodenschichten zu liegen kommen, ist aus diesen vergleichsweise geringen Tiefen eine erfolgreiche Keimung und das Auflaufen von Durchwuchsrap eher möglich als bei einer tieferen Verlagerung durch wendende Bodenbearbeitung mit dem Pflug.

Samen sind in den oberen Bodenschichten Temperaturschwankungen stärker ausgesetzt als in tieferen Schichten, in denen ausgeglichene Temperaturverhältnisse herrschen. Sowohl das alternierende Temperatursignal der Tag- und Nacht-Schwankungen als auch der Kältereiz über Winter können in oberflächennahen Bodenschichten eine **Stratifikation** der Samen bewirken und die Keimung einleiten. Vermutlich erfolgt diese Reaktion vor dem biologischen Hintergrund, dass Samen einen Selektionsvorteil besitzen, wenn über die Umgebungstemperatur Informationen über eine günstige Keimlage im Boden vermittelt werden, wie für *Sorghum halepense* gezeigt wurde (GHERSA *et al.* 1992). Ein solches Reaktionsmuster ließe

sich von Unkräutern erwarten, die gut an Ackerkulturen unter wendender Bodenbearbeitung angepasst sind. Samen, die durch Bodenbearbeitung in für erfolgreiche Keimung ungeeignete Bodentiefen verlagert worden sind, würden Dormanz nicht oder weniger schnell verlieren als oberflächennah gelegene Samen und auf diese Weise längere Zeit überdauern. Raps als ‚junge‘ Kulturpflanze mit verschiedenen Wildpflanzeigenschaften könnte ebenfalls nach diesem Muster reagieren.

In der Diskussion um den Abbau von Dormanz stehen jahreszeitliche Rhythmen von Dormanz und Keimbereitschaft sowie Alterungsprozesse der Samen (BASKIN & BASKIN 1985; FROUD-WILLIAMS *et al.* 1986; PEKRUN & BAEUMER 1991; REISMAN-BERMAN *et al.* 1991; BOUWMEESTER & KARSSSEN 1992; BASKIN *et al.* 1996). Die in der vorliegenden Arbeit beschriebene zeitliche Abnahme der Fähigkeit zur Dormanzinduktion bei Lagerung der Samen sowie der Abbau primärer Dormanz können als Hinweis auf solche Prozesse gelten. Es ist wahrscheinlich, dass neben rein endogenen Prozessen auch bestimmte Umweltparameter wie Temperaturhöhe oder Temperaturdifferenzen Signale zur Beeinflussung von Dormanz und Keimbereitschaft setzen.

Im Frühjahr nach dem Sameneintrag trat in Variante 3 (unverzögliche Stoppelbearbeitung, Grundbodenbearbeitung Grubber) und zum Teil in Variante 4 (Direktsaat) eine relativ hohe Anzahl von **blühendem Durchwuchsraps** in der Folgefrucht Winterweizen auf. Der beobachtete Umfang lässt sich auf die Kombination von relativ großem Bodensamenvorrat mit einer für Dormanzbrechung und erfolgreiche Etablierung geeigneten Position von Samen in oberen Bodenschichten zurückführen. Im ersten Versuchsjahr des Versuchs V a hatten zudem in der Variante 4 im Herbst gekeimte Rapspflanzen überwintert, die im Frühjahr einen Wachstumsvorsprung gegenüber neu auflaufendem Durchwuchsraps hatten und im Winterweizen besonders konkurrenzstark waren. Kontrollen der Flächen über die folgenden Jahre werden zeigen, ob in den Pflugvarianten 1 und 2 tief verlagerte Samen durch erneutes Pflügen wieder in oberflächennahe Schichten gelangen und dadurch zu einem vermehrten Auftreten von Durchwuchs führen.

Die absolute Anzahl der Durchwuchspflanzen war in der beschriebenen Größenordnung vermutlich nur möglich, weil im Frühjahr auf chemische oder mechanische Unkrautkontrolle verzichtet worden war. Mit diesem Vorgehen wurde ein Szenario mit Maximalwerten entworfen, das dazu dient, Reaktionsmuster bei der Beziehungskette ‚Bodenbearbeitung – Samenvorrat – Durchwuchsraps‘ modellhaft abzuleiten. Dennoch ist dieses Szenario nicht praxisfern. Wegen des steten Auflaufens von Durchwuchsraps über die gesamte Vegetationsperiode

im Winterweizen ist Durchwuchs mit einer einmaligen Bekämpfungsmaßnahme nicht sicher zu kontrollieren. Aus Kostengründen werden mehrmalige Applikationen gegen Durchwuchsrap nicht durchgeführt werden, solange der Besatz unter der wirtschaftlichen Schadschwelle bleibt. Wenn eine Unkrautregulierung zusätzlich witterungsbedingt entweder nicht rechtzeitig vorgenommen werden kann oder keine vollständige Wirkung zeigt, könnte Durchwuchsrap auch in der Praxis in der beschriebenen Größenordnung auftreten. Zusätzlich zu direkten Bekämpfungsmaßnahmen sind deshalb indirekte und vorbeugende Maßnahmen wie verzögerte Stoppelbearbeitung nach der Rapsernte und weite Fruchtfolgen zur Vermeidung von Durchwuchsrap empfehlenswert.

Folgende zentrale Aussagen lassen sich aus der Diskussion der Ergebnisse treffen:

- Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug verlagert viele Samen in Bodentiefen, in denen sie durch fatale Keimung zu Grunde gehen.
- Im ersten Frühjahr nach der Rapsernte läuft viel Durchwuchsrap auf, wenn der Samenvorrat auf Grund nichtwendender Bodenbearbeitung in einer oberflächennahen Bodenschicht vorliegt. In dieser Schicht können Brechung von Dormanz und eine erfolgreiche Keimung erfolgen.
- Nach wendender Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug läuft im ersten Frühjahr nach der Rapsernte wenig Durchwuchsrap auf. Bei wiederholtem Einsatz des Pfluges könnte auf Grund der Verlagerung des Bodensamenvorrats in obere Bodenhorizonte mit vermehrtem Durchwuchsrap in den Folgejahren zu rechnen sein.

7.3 Weitere Einflussfaktoren auf die Überdauerungsneigung

Die Ergebnisse von Sortenvergleichen im Labor mit Material verschiedener Herkünfte und Erntejahre legen nahe, dass neben einer genetischen Komponente und den Umweltfaktoren, die nach dem Eintrag von Rapssamen auf eine Fläche die Überdauerungsneigung beeinflussen, auch bestimmte Faktoren bereits während der Abreife die **Disposition** zur Überdauerung prägen.

Jahres- und standortabhängige Unterschiede in der Ausprägung (primärer) Dormanz von Samen sind für diverse Wildpflanzen und Getreide beschrieben (NAYLOR & ABDALLA 1982; RAUBER 1985; ANDERSSON & MILBERG 1998; LÜTKE ENTRUP & OEHMICHEN 2000). Für einen Effekt der Reifebedingungen auf die sekundäre Dormanz von Rapssamen liegen ebenfalls Hinweise vor (LUTMAN, persönl. Mitteilung; MESSEAN, persönl. Mitteilung). Eigene Untersuchungen im Labor ermittelten für Rapssamen verschiedener Sorten aus dem Erntejahr 2003 mit einem außergewöhnlich heißen und trockenen Sommer im Vergleich zu den Vorjahren stark eingeschränkte Werte der sekundären Dormanz (GRUBER, unveröffentlicht).

Häufig ist eine Abreife unter erhöhten Temperaturen bei Wildpflanzen und auch Weizen mit einer erhöhten Keimfähigkeit bzw. einer geringen Dormanz positiv korreliert (FENNER 1991; GARELLO & LE PAGE-DEGIVRY 1999). Auch Trockenheit während der Samenreife kann zu einer Verminderung von Dormanz führen (FENNER 1991; WRIGHT *et al.* 1999).

Wie bei der Induktion sekundärer Dormanz im Boden sind Dauer und Qualität der Einstrahlung von **Licht** während der Reife ein entscheidender Faktor auf die Keimfähigkeit bzw. Dormanz und Überdauerungsfähigkeit von Samen (FENNER 1991; MUNIR *et al.* 2001). Kurztagsbedingungen fördern bei verschiedenen Wildpflanzen die Keimfähigkeit, während Dormanz mit zunehmender Tageslänge während der Abreife steigt. Unterschiede in der Photoperiode könnten daher in den vorgestellten Versuchen auf Grund eines witterungsbedingt relativ frühen oder späten Erntetermins zu einer unterschiedlichen Disposition zu sekundärer Dormanz geführt haben. Wahrscheinlich ist die Tageslänge bei der Abreife von Winterraps an den beschriebenen Standorten in Deutschland jedoch nicht ausschlaggebend, da die Differenz der Tageslänge an möglichen Ernteterminen für den Raum Stuttgart (48° 46' N / 9° 11' O) zwischen Beginn und Ende Juli nur rund eine Stunde beträgt, und in beiden Fällen Langtagsbedingungen mit ca. 15 bzw. 16 Stunden Licht vorliegen.

Die Qualität des während der Samenreife eingestrahlt Lichts kann wichtig für die Festlegung der späteren Lichtbedürfnisse zur Auslösung der Keimung sein (FENNER 1991). Ursache hierfür ist vermutlich der durch Licht bestimmter Wellenlängen beeinflusste Zustand des Phytochromsystems, der besonders in der Dehydrierungsphase der Samen entscheidend zu sein scheint. Da vor allem die Einstrahlung roten Lichts unterschiedlicher Wellenlänge Änderungen im Phytochromsystem bewirkt (BEWLEY & BLACK 1994; CASAL & SÁNCHEZ 1998), ist es vorstellbar, dass Samen, die unter einer Beschattung von grünem Laub heranreifen, andere Ausprägungen von Dormanz entwickeln als Samen, die freier Sonneneinstrahlung ausgesetzt sind. Bodennah gebildete Samen könnten daher allein durch die Lichteinwirkung eine andere Dormanz aufweisen als Samen am apikalen Ende einer Pflanze. DONGUS *et al.* (2003)

zeigten im Laborversuch bei Raps, dass Samen von unteren Insertionen der Rapspflanze zu signifikant geringeren Anteilen sekundär dormant wurden als Samen von oberen Stängelpositionen. Eine Variation der Überdauerungsneigung von Rapssorten wäre demzufolge zusätzlich auf den Wuchstyp der Pflanzen zurückzuführen oder sogar nur ein Effekt der jeweiligen Bestandesdichte. Ein Vergleich uneinheitlicher Stichproben verschiedener Sorten kann daher zu Fehleinschätzungen der genetischen Komponente der Dormanz führen. Auch wenn die Umwelt während der Abreife nur bedingt über die Bestandesführung kontrolliert werden kann, ist es für den methodischen Ansatz wichtig, dass ein direkter und bewertender Vergleich der Dormanz nur für Sorten aus identischen Umwelten erfolgen kann.

In diesem Zusammenhang ergibt sich ein alternativer Erklärungsansatz für die aufgefundene Variation der Überdauerungsneigung zwischen unterschiedlichen Sorten in den Labor- und Vergrabungsversuchen (Abschnitt 7.1.1). Sorten unterschiedlicher Reifetypen könnten sich zum gemeinsamen Erntezeitpunkt in verschiedenen Stadien der Abreife befunden haben. Der Prozess einer wiederholten Konvertierung bestimmter Phytochrome durch Umweltreize in der letzten Phase der Samenreifung in dormant- oder keimungsfördernde Formen wäre daher bei spät reifenden Sorten durch die Ernte vorzeitig beendet worden. In einigen Sorten läge somit eine eher Keimung begünstigende, in anderen eine eher Dormanz fördernde Relation der Phytochromformen zueinander vor. Zwar wären auf diese Weise Unterschiede in der Überdauerungsneigung ebenfalls genetisch bedingt, doch wären sie über den Reifetyp nur mittelbarer Natur. Diese Hypothese ist anhand der vorliegenden Ergebnisse weder anzunehmen noch abzulehnen. Da jedoch bei anderen Kultur- und Wildpflanzen Gene identifiziert wurden, die Dormanz direkt beeinflussen (Abschnitt 1.3), wird davon ausgegangen, dass bei Raps ebenfalls ein direkter genetischer Effekt für die Ausbildung von Dormanz vorliegt.

Unterschiede in der Dormanz von Samen verschiedener Herkünfte oder Erntejahre können auf einem **Polymorphismus** der Samen beruhen (ANDERSSON 1996; BASKIN *et al.* 1998; LANDBO & JØRGENSEN 1997; THOMAS *et al.* 1979; GULDEN *et al.* 2004). Darin könnte eine Ursache für die teilweise signifikanten Unterschiede der sekundären Dormanz bei den geprüften transgenen und nah-isogenen Sorten liegen, die von unterschiedlichen Standorten und aus unterschiedlichen Erntejahren stammten (Kapitel 7.1.2).

Samenfraktionen von Raps, die in Farbe und Gewicht voneinander abwichen, bildeten in den Arbeiten von DONGUS *et al.* (2003) und GULDEN *et al.* (2004) in unterschiedlichem Grad sekundäre Dormanz aus. Eine abschließende Aussage über einen Zusammenhang zwischen Samenfarbe oder Samengewicht einerseits und Samenüberdauerung bzw. Keimfähigkeit

andererseits ist anhand der vorliegenden Quellen nicht zu treffen, da die Ergebnisse auch bei anderen Pflanzenarten nicht konsistent sind (DE PAUW & MC CRAIG 1983; DOUCET & CAVERS 1997). Die in der vorliegenden Arbeit geprüften Sorten wurden nicht gezielt auf diese Merkmale untersucht, so dass der Effekt eines Samenpolymorphismus auf die beobachtete Überdauerungsneigung nicht zu belegen ist.

Folgende zentrale Aussagen lassen sich aus der Diskussion der Ergebnisse treffen:

- Abreifebedingungen (Temperatur, Einstrahlung, Feuchtigkeit) haben einen Einfluss auf die spätere Ausbildung sekundärer Dormanz von Rapsamen.
- Ein direkter Vergleich der absoluten Höhe sekundärer Dormanz und der Überdauerungsneigung bei Raps sollte nur mit Saatgut vom selben Standort erfolgen.

7.4 Gentransfer durch Samenüberdauerung

In der vorliegenden Arbeit wurde eine mehrmonatige Überdauerung von Rapsamen im Boden dokumentiert. Damit liegen die Voraussetzungen für einen zeitlichen Gentransfer vor. Genotyp und Bodenbearbeitung waren entscheidende Faktoren für den Aufbau eines Bodensamenvorrats, daraus aufwachsenden Durchwuchsrap und daher indirekt auch für möglichen Gentransfer. Offen bleibt, ob und welche Nachteile für Mensch und Umwelt damit verbunden sind.

Es soll hier unterstellt werden, dass unerwünschte Eigenschaften der überdauernden Samen erst dann zu Tage treten, wenn aus überdauernden Samen Durchwuchsrap aufwächst. **Pflanzenbauliche Nachteile** könnten sich ergeben, wenn herbizidtoleranter Durchwuchsrap mit einem bestimmten Pflanzenschutzmittel nicht mehr zu kontrollieren ist. Nachteilig für die **Vermarktung** wäre es, wenn Samen von transgenem Durchwuchsrap oder dessen Kreuzungsprodukten im Erntegut in Anteilen enthalten wären, die der Deklarierungspflicht unterliegen, und das Endprodukt deswegen vom Verbraucher weniger gut abgenommen würde. Ein sicherheitsrelevanter Aspekt bei transgenen Kulturpflanzen ist das Ausmaß, mit dem sich neuartige Eigenschaften über Pollenflug in andere Wild- oder Kulturpflanzenbestände im **Ökosystem** ausbreiten können. Wenn Kreuzungspartner aus Wildpflanzenpopulationen vorhanden sind, mit denen fertile Nachkommen erzeugt werden, ist die Introgression von Genen

und Eigenschaften in diese Populationen möglich. Dabei ist es in der Regel unerwünscht, wenn diese Eigenschaften einen Selektionsvorteil für den Träger des neu eingeführten Gens bieten, der auf diese Weise andere Genotypen oder Spezies im Ökosystem schädigt oder verdrängt. Im Fall der in dieser Studie verwendeten Rapsorten mit Herbizidtoleranz ist dieser Nachteil nicht zu erwarten, da herbizide Wirkstoffe nicht in naturnahen oder natürlichen Ökosystemen eingesetzt werden und damit ein Selektionsdruck ausbleibt. Dem Effekt einer ungewollten Übertragung von Herbizidtoleranz auf Unkräuter kann derzeit mit dem Einsatz von Herbiziden mit anderem Wirkungsmuster begegnet werden. Problematisch könnten auf längere Sicht Unkräuter mit multiplen Herbizidtoleranzen oder herbizidtolerante Unkräuter in Kulturbeständen mit Toleranz gegen dasselbe Herbizid werden. Besonders Fruchtfolgen mit mehreren herbizidtoleranten Kulturen wären unter diesen Aspekten kritisch zu bewerten.

Raps ist mit einer Anzahl verwandter Brassicaceen zur **Auskreuzung** fähig (Abschnitt 1.6). Die Blütezeit von Durchwuchsraps überschneidet sich mit der von Ackersenf (*Sinapis arvensis*), Rübsen (*Brassica campestris* bzw. *B. rapa*), Grausenf (*Hirschfeldia incana*) und Schwarzem Senf (*B. nigra*) (HANF 1990), so dass ein Gentransfer auf diese Arten, die mit Raps hybridisieren können, stattgefunden haben kann. Auskreuzungen mit anderen Rapsbeständen waren wegen gleicher Blütezeiten in einem Versuchsjahr ebenfalls möglich.

Durchwuchsraps, der erst im Frühjahr aufläuft, kann annähernd zeitgleich mit konventionellem Raps zur Blüte kommen. Sogar noch im April in Winterweizen auflaufender Durchwuchsraps trat in die generative Phase ein. Eine offene Frage ist, in welchem Zeitraum und in welchen Kulturarten Durchwuchsraps auflaufen kann, um noch zur Blüte zu kommen und in andere Bestände oder Wildpflanzen auszukreuzen.

Obwohl Winterraps meistens keinen ausgeprägten Vernalisationsbedarf hat, fanden sich im späten Frühjahr auch Pflanzen mit einem Habitus, der auf eine mangelnde Blühinduktion zurückzuführen war. Daher liegt bei den geprüften Sorten offenbar ein gewisser Vernalisationsbedarf vor. Beim Auflaufen in Winterungen im Herbst ist mit einem annähernd regulären Wachstumsverlauf und einer Blüte von Durchwuchsraps im Folgejahr zu rechnen. In frühen Sommerungen auflaufender Durchwuchsraps wird mit einer gewissen Wahrscheinlichkeit vernalisiert werden und zur Blüte kommen, während in späten Sommerungen wie Mais und ohne entsprechend tiefe Temperaturen eine geringere Blühinduktion bei Winterraps zu erwarten ist. Die vollständige Entwicklung von spät auflaufendem Durchwuchsraps ist auf Grund der kürzeren zur Verfügung stehenden Vegetationszeit vermutlich eingeschränkt. Beim Auftreten von Durchwuchs von Sommerraps oder indifferenten Formen folgt auf eine

Keimung im Frühjahr in jedem Fall mit sehr hoher Wahrscheinlichkeit der Eintritt in die generative Phase. Die in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse sind daher hinsichtlich ihrer Übertragbarkeit auf Anbauverfahren in Nordamerika und Nord- und Osteuropa zu überprüfen, wo vorwiegend Sommerformen genutzt werden.

Ein hohes Potenzial für späteren Gentransfer ist grundsätzlich mit solchen Bodenbearbeitungsmaßnahmen verbunden, die nach der Rapsernte einen großen Bodensamenvorrat verursachen. Wenn ein Samenvorrat auf Grund nicht-wendender Bodenbearbeitung mit dem Grubber oder nach Direktsaat in oberen Bodenschichten vorliegt, ist der Zeitpunkt für das Auflaufen von Durchwuchsrap und die Wahrscheinlichkeit für Gentransfer über blühenden Durchwuchsrap relativ gut abzuschätzen. Wie die Ergebnisse zeigen, ist hier bereits im folgenden Frühjahr vergleichsweise viel Durchwuchsrap zu erwarten. Weniger gut kalkulierbar ist das Risiko eines Gentransfers über Auskreuzung, wenn der Bodensamenvorrat nach einer Bodenbearbeitung mit dem Pflug in tieferen Schichten zu liegen kommt und es schwerer abzusehen ist, wann und in welchem Umfang dieses Samenpotenzial in Bodenschichten gelangt, aus denen eine Keimung und das Auflaufen von Durchwuchsrap möglich ist.

Die trotz eines Befalls mit Schaderregern produzierte Menge von bis zu 8 (Ernte 2003) bzw. 60 (Ernte 2002) keimfähigen **Samen** m⁻² von Durchwuchsrap kann zu einer unerwünschten Vermischung mit dem Erntegut der Kulturart führen, in der die Durchwuchspflanzen aufgewachsen sind. Bei unerkanntem Aufwachsen in einem anderen Rapsbestand ist mit einer größeren Beimischung zu rechnen, da Maßnahmen zur Bestandesführung wie z.B. Pflanzenschutz auch die Entwicklung und Samenproduktion der Durchwuchspflanzen fördern. Eine Ergänzung des Bodensamenvorrats mit ausgefallenen Samen von Durchwuchsrap kann wegen der geringen Samenmenge nur in unerheblichem Umfang stattfinden. Auch in einem Rapsbestand wird die Anzahl ausgefallener Samen von Durchwuchsrap verglichen mit der gesamten Menge an Ausfallrap gering sein, so dass das Bestehen einer vom Anbau unabhängigen, sich selbst reproduzierenden Wildpopulation von Raps auf Ackerflächen unwahrscheinlich ist.

Unter Praxisbedingungen ist eine geringere Etablierung von Durchwuchsrap zu erwarten als in der vorliegenden Arbeit unter Versuchsbedingungen beschrieben, da chemische oder mechanische Bekämpfung besonders in Getreidebeständen Kontrollmöglichkeiten von Durchwuchsrap bieten. Die Effizienz der Bekämpfungsmaßnahme wird in der Realität dabei jedoch unterschiedlich hoch sein. Die wirtschaftliche **Schadschwelle** für eine Bekämpfung

kann beim Auftreten transgener Durchwuchsrapspflanzen deutlich unter der von konventionellem Raps liegen, da nicht nur rein pflanzenbauliche Nachteile, sondern auch ein wirtschaftlicher Schaden durch ungewollte Vermischung von Partien und mangelnde Sortenreinheit eintreten kann. Insbesondere im Hinblick auf die Regelungen zu Schadensersatzansprüchen im vorliegenden Gesetzentwurf für ein novelliertes Gentechnikgesetz können bereits wenige Durchwuchspflanzen ein wirtschaftliches Risiko für den Produzenten bedeuten.

Folgende zentrale Aussagen lassen sich aus der Diskussion der Ergebnisse treffen:

- Sowohl vor dem Winter als auch im Frühjahr auflaufender Durchwuchswinterraps kann blühen; Auskreuzungen in Rapsbestände und Wildpflanzen sind auf Grund von Überschneidungen der Blütezeiten möglich.
- Durchwuchsrapspflanzen produzieren keimfähige Samen, die als unerwünschte Anteile in das Erntegut gelangen könnten.
- Das Bestehen einer sich selbst reproduzierenden Durchwuchsrapspopulation auf Ackerflächen ist nicht wahrscheinlich.

7.5 Dynamik des Bodensamenvorrats von Raps

Eine Vielzahl von Prozessen ist am Aufbau, dem Erhalt und der Reduktion des Bodensamenvorrats beteiligt. Unter populationsdynamischem Ansatz existieren Modelle, die diese Prozesse für Unkrautsamen beschreiben (URBANSKA 1992; LI & FOLEY 1997; BASKIN & BASKIN 1998). Für Raps lässt sich in Anlehnung an PEKRUN *et al.* (1999) aus pflanzenbaulicher Sicht ein Schema für die Dynamik in den Boden eingetragener Samen entwickeln, das die in den vorangegangenen Abschnitten erarbeiteten Aspekte zur Überdauerung von Rapssamen und zum potenziellen Gentransfer über Durchwuchsrapspflanzen modellhaft einbezieht (Abb. 7.1).

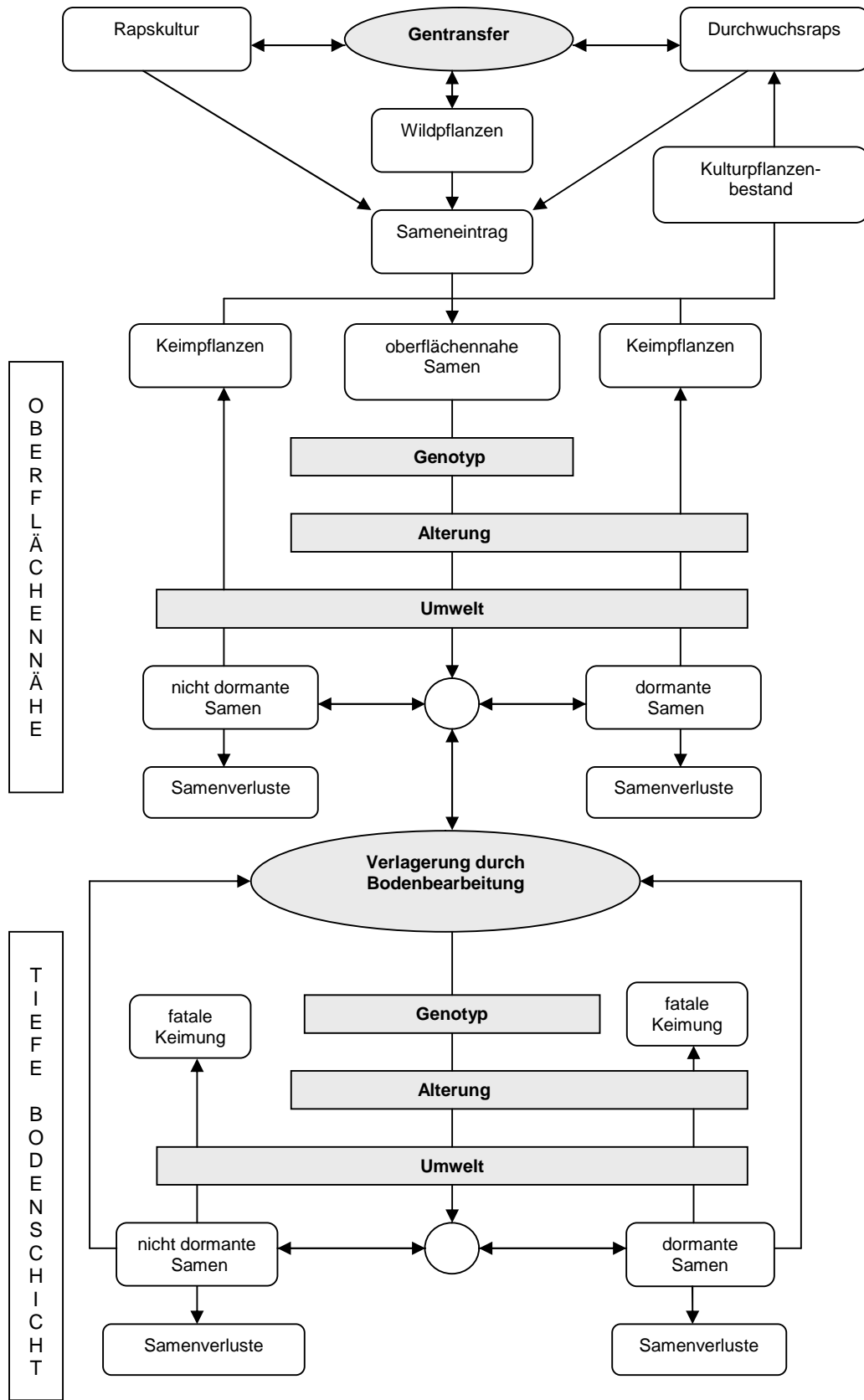


Abb. 7.1: Dynamik des Bodensamenvorrats von Raps und Aufwuchs von Durchwuchsrap mit poten-
 ziellem Gentransfer

Das Modell bildet vereinfachend die wichtigsten Prozesse ab, denen Rapsamen im Boden unterliegen, und die letztlich einen möglichen Gentransfer beeinflussen. Jeder dieser Prozesse integriert eine Vielzahl von Faktoren und Parametern, die für eine abschließende Aussage über Samenüberdauerung und Gentransfer in einer Einzelfallbetrachtung weiter definiert werden müssen. Grundsätzlich verlaufen Samenüberdauerung von Raps und Gentransfer über Durchwuchsraps im vorgestellten Modell wie folgt:

- Eingetragene Samen, die sich auf oder nahe der Bodenoberfläche befinden, entwickeln je nach Disposition durch Genotyp, Samenalter und Umwelt vor und nach der Reife Dormanz oder sie bleiben auf Grund von Quieszenz ungekeimt. Verschiedene, für diese Bodentiefe spezifische Verlustfaktoren führen zu einer Reduktion der Samenmenge. Bei Vorliegen entsprechender Umweltbedingungen können die quieszenten Samen innerhalb kurzer Zeit direkt keimen, während dazu bei den dormanten Samen zunächst ein Abbau der Dormanz durch Umweltreize oder Alterung erfolgen muss.
- Nach einer Verlagerung noch ungekeimter Samen durch Bodenbearbeitung in tiefere Bodenschichten kann erneut unter dem Einfluss von Genotyp, Alterung und Umwelt Dormanz induziert werden, oder bestehende Dormanz bleibt erhalten. Nicht dormante Samen gehen aus diesen Tiefen durch fatale Keimung zu Grunde, wenn sie durch Umweltreize zur Keimung angeregt werden. Bei Brechung oder Abbau der Dormanz durch endogene oder äußere Faktoren unterliegen in dieser Tiefe auch vorher dormante Samen fataler Keimung. Spezifische Verlustfaktoren in unteren Bodentiefen können die Samenmenge im Boden weiter reduzieren.
- Erneute Bodenbearbeitung verlagert einen Teil der Samen aus tieferen in oberflächennähere Bodenschichten, wo die Samen erfolgreich keimen können, wenn Umweltreize oder endogene Prozesse zum Abbau der Dormanz führen und geeignete Bedingungen für die Keimung vorliegen.
- Nach einer Etablierung von Durchwuchsraps in einem Kulturpflanzenbestand kann je nach Blütezeit ein Gentransfer durch Pollenflug und Einkreuzung in andere Rapsbestände oder Wildpflanzen stattfinden. Samen, die von diesen Pflanzen gebildet werden, können als Ausfallverluste wieder in den Boden eingetragen oder im Erntegut miterfasst werden.

Unter Einbeziehung zentraler Aussagen der vorangegangenen Abschnitte werden mit dem vorgestellten Modell exemplarisch zwei Szenarien der Dynamik des Bodensamenvorrats mit

anschließendem Gentransfer über DurchwuchsrapS entworfen (Tabelle 7.6). Beide Szenarien stellen Extremsituationen innerhalb des möglichen Spektrums dar. Die Gegenüberstellung führt Bedingungen für ein besonders niedriges und ein besonders hohes Potenzial für Gentransfer im ersten Folgejahr nach dem Anbau von Raps auf; dabei sind nicht alle möglichen Prozesse und Faktoren im Boden und beim Wachstum der Durchwuchspflanzen miteinbezogen.

Tabelle 6.6: Szenarien für hohes und niedriges Potenzial eines Gentransfers von blühendem, transgenem DurchwuchsrapS im ersten Jahr nach der Rapsernte unter Einbeziehung unterschiedlicher Maßnahmen, Prozesse und Faktoren im Feld

Szenario 1 Geringes Potenzial für Samenüberdauerung und Gentransfer	Szenario 2 Hohes Potenzial für Samenüberdauerung und Gentransfer
– Anbau von Sorten mit geringer Überdauerungsneigung	– Anbau von Sorten mit hoher Überdauerungsneigung
– Zeitverzögerte Stoppelbearbeitung nach der Ernte und daher kurze Exposition der ausgefallenen Samen gegenüber Dormanz induzierenden Bedingungen	– Zeitnahe Stoppelbearbeitung nach der Ernte und daher lange Exposition der ausgefallenen Samen gegenüber Dormanz induzierenden Bedingungen
– Tiefe, vertikale Verlagerung der Samen durch wendende Grundbodenbearbeitung	– Oberflächennahe Verteilung der Samen durch lockernde Grundbodenbearbeitung
– Fatale Keimung nicht dormanter Samen	– Erfolgreiche Keimung nicht dormanter Samen
– Geringe Biomassebildung und eingeschränkte Blühinduktion durch spätes Auflaufen von DurchwuchsrapS in einer Sommerung	– Entwicklung kräftiger Durchwuchspflanzen und Blühinduktion bei frühem Auflaufen von DurchwuchsrapS in einer Winterung
– Keine Überschneidung der Blütezeiten von DurchwuchsrapS und Praxisbeständen, keine Auskreuzung in Kulturraps	– Überschneidung der Blütezeiten von DurchwuchsrapS und Praxisbeständen, Auskreuzung in Kulturraps
– Kein Gentransfer durch Pollen	– Gentransfer durch Pollen
– Geringe Samenproduktion	– Hohe Samenproduktion
– Beimischung transgener Bestandteile unter dem Schwellenwert, kein erneuter Sameneintrag in den Boden	– Beimischung transgener Bestandteile überschreitet Schwellenwert, erneuter Sameneintrag in den Boden

Mehrfährige Effekte sind in den beiden Szenarien nicht berücksichtigt, müssen für die Praxis jedoch weiter geprüft werden.

Viele der beschriebenen Maßnahmen, Prozesse oder Faktoren wirken nicht für sich allein betrachtet entweder fördernd oder einschränkend auf Samenüberdauerung und Gentransfer, sondern sind in ihrer jeweiligen Kombination und Wechselwirkung entscheidend.

Unter Einbeziehung der in der vorliegenden Arbeit gewonnenen Daten ist mit diesem Modellansatz in weiterführenden Studien grundsätzlich eine zahlenmäßige Abschätzung der Samenüberdauerung und der Wahrscheinlichkeit von Gentransfer möglich.

8 Zusammenfassung

Hohe Ausfallverluste bei der Rapsernte und die Fähigkeit der Samen, sekundäre Dormanz zu entwickeln, können zum Aufbau eines langjährigen Bodensamenvorrats führen. Aus diesem Samenvorrat auflaufender Durchwuchsraps ist in Folgekulturen zum Teil nur eingeschränkt chemisch oder mechanisch zu kontrollieren, besonders innerhalb eines erneuten Rapsbestandes im Laufe der Fruchtfolge. Neben bekannten pflanzenbaulichen Nachteilen treten mit der Entwicklung und dem Anbau transgener Sorten Aspekte des Gentransfers durch überdauernde Rapssamen in den Vordergrund. Bisher gültige Schadschwellen für die Einschränkung von Durchwuchsraps müssen neu überdacht werden.

Die vorliegende Arbeit geht der Frage nach, welche Möglichkeiten sich über die Auswahl geeigneter Genotypen und über Bodenbearbeitungsmaßnahmen bieten, die Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen herabzusetzen und das Potenzial für einen Gentransfer zu reduzieren. In vier Publikationen, die auf unterschiedlichen Versuchen im Labor und im Feld basieren, wurden die beiden Schwerpunkte ‚Genotyp‘ und ‚Bodenbearbeitung‘ im Hinblick auf einen potenziellen Gentransfer durch Samenüberdauerung von Raps untersucht und diskutiert.

Den ersten inhaltlichen Schwerpunkt bildet die Charakterisierung der genotypischen Variation sekundärer Dormanz und der Samenüberdauerung bei transgenen und konventionell gezüchteten Winterrapssorten. Die drei geprüften transgenen Sorten sind tolerant gegen das nicht-selektive Herbizid Basta[®] (Wirkstoff Glufosinat). Parallel dazu wurden die drei nah-isogenen Pendanten sowie weitere rund 30 konventionell gezüchtete Rapssorten verschiedener Herkünfte und Erntejahre untersucht. Mit einem Laborversuch zur künstlichen Induktion sekundärer Dormanz, einem Vergrabungsversuch von Samen im Freiland und mit einem Feldversuch zur Überdauerung von tatsächlichen Ausfallverlusten unter praxisgemäßer Bodenbearbeitung und Witterung fand eine Prüfung der Überdauerungsneigung in fortschreitender Annäherung an Praxisbedingungen statt. Im Laborversuch und im Vergrabungsversuch wurde jeweils das gesamte Sortiment geprüft, während für den Feldversuch aus Kapazitätsgründen nur vier ausgewählte Sorten verwendet wurden. Transgene Sorten wurden wegen der im Versuchszeitraum ungewissen Rechtslage im Zusammenhang mit der ‚Schwellenwertdiskussion‘ nur im Labor- und Vergrabungsversuch eingesetzt. In allen Versuchsansätzen zeigte die Überdauerungsneigung der Rapssorten eine hohe genotypische Variation. Die sekundäre Dormanz lag im Labor über alle Versuchsjahre zwischen 3 und 76 % bei den konventionellen Sorten, und zwischen 1 und 31 % bei den transgenen Sorten. Im Vergrabungs-

versuch überdauerten zwischen 7 und 90 % der konventionellen sowie 12 bis 79 % der transgenen Samen ein halbes Jahr im Boden, und im praxisnahen Feldversuch mit vier konventionellen Sorten 0 bis 11 %. Aus signifikanten Korrelationen zwischen Laborversuchen zweier Erntejahre sowie zwischen Labor- und Vergrabungsversuchen des jeweils selben Erntejahres wird das Vorliegen eines genetischen Hintergrundes für die Ausbildung sekundärer Dormanz und für Samenüberdauerung bei Raps abgeleitet. Die Unterschiede in der absoluten Höhe der Dormanz bzw. Überdauerung zwischen den Versuchen werden auf die jeweiligen Versuchsbedingungen zurückgeführt, die die Samen unterschiedlichen, im Freiland nur bedingt kontrollierten und reproduzierbaren Umweltbedingungen aussetzten. Dieses Ergebnis bestätigt und ergänzt bestehende Hypothesen einer genetischen Disposition zu sekundärer Dormanz bei Raps und weiteren Kultur- und Wildpflanzen.

Bei länger gelagertem Saatgut ist auf Grund einer Abnahme der Neigung zu sekundärer Dormanz keine verlässliche Aussage zur Überdauerungsfähigkeit von erntefrischem Material möglich. Weiterhin wird postuliert, dass Umwelteffekte von Standort und Erntejahr den direkten Vergleich von Sorten verschiedener Herkunft nur bedingt zulassen. Deswegen ist darauf zu achten, dass bei Sortenvergleichen nur frisch geerntetes Material vom selben Standort und Erntejahr verwendet wird, da sonst Überlagerungen mit anderen Effekten zu Fehlinterpretationen des Sorteneinflusses führen können.

Die vorliegenden Ergebnisse zeigen erstmals, dass die Labormethode geeignet ist, die Überdauerungsneigung der Sorten im Feld differenzierend zu beschreiben. Dieses Ergebnis eröffnet die Möglichkeit, Sorten im Labor zu screenen, um gewünschte Genotypen mit geringer Neigung zu sekundärer Dormanz zu identifizieren und zu züchten. Aus Sicht der Bewertung eines unerwünschten Gentransfers sind Ideotypen mit geringer sekundärer Dormanz und geringer Überdauerungsfähigkeit besonders für transgene Sorten wichtig.

Den zweiten Schwerpunkt der Arbeit bildete die Prüfung des Einflusses von Bodenbearbeitung auf die Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen und das Auftreten von Durchwuchsraps. In einem ersten Versuchsansatz erfolgte in den Sommern 2001 und 2002 auf einer Versuchsfläche ein Sameneintrag durch Ausstreuen von 10.000 Samen m^{-2} , und im zweiten Versuchsansatz ein Sameneintrag durch tatsächliche Ausfallverluste bei der Rapsernte 2002 von durchschnittlich 1.300 Samen m^{-2} . Mit unterschiedlich intensiven Bodenbearbeitungsverfahren wurden die Samen zweier konventionell gezüchteter Rapssorten zu unterschiedlichen Zeitpunkten nach dem Sameneintrag in den Boden eingearbeitet bzw. auf der Bodenoberfläche belassen. Auf Grund der unsicheren Rechtslage zum Zeitpunkt der Versuchsdurchführung

war von den Züchtern kein transgenes Saatgut erhältlich, so dass trotz Vorliegens einer Freisetzungsgenehmigung anstelle der transgenen Sorten die konventionellen, nah-isogenen Pendants verwendet wurden.

Die geprüften Varianten waren: sofortige Stoppelbearbeitung nach dem Sameneintrag und im Herbst wendende Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug (Variante 1), um vier Wochen verzögerte Stoppelbearbeitung und im Herbst wendende Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug (Variante 2), sofortige Stoppelbearbeitung und im Herbst lockernde Grundbodenbearbeitung mit dem Grubber (Variante 3), und Direktsaat ohne Bodenbearbeitung (Variante 4). In allen Varianten folgte die Aussaat von Winterweizen, in dem keine Unkrautregulierung durchgeführt wurde. In Varianten mit unverzüglicher Stoppelbearbeitung nach dem Sameneintrag (1 und 3) bildete sich innerhalb von sechs Monaten stets der größte Bodensamenvorrat heraus, der zwischen 1 und 14 %, im Einzelfall rund 28 %, der im Sommer zuvor eingetragenen Samen umfasste. Bei um vier Wochen verzögerter Stoppelbearbeitung und späterer Grundbodenbearbeitung mit dem Pflug (Variante 2) baute sich ein Bodensamenvorrat von 0 bis 3 % des Sameneintrags auf. Der Verzicht auf jegliche Bodenbearbeitung führte zum Aufbau eines Bodensamenvorrats von 0 bis 17 % (Variante 4). Die geschilderten Effekte sind auf die unterschiedlich intensive Einwirkung von Faktoren zurückzuführen, die einerseits sekundäre Dormanz induzieren und andererseits Samenverluste verursachen. In erster Linie fallen darunter Dunkelheit und ein stark negatives Wasserpotenzial zur Dormanzinduktion, sowie Verluste durch fatale Keimung nicht dormanter Samen aus tiefen Bodenschichten. Zur Vermeidung des Aufbaus eines Bodensamenvorrats sollte nach den vorliegenden Ergebnissen eine Bodenbearbeitung erst einige Wochen nach der Rapsernte erfolgen. Weitere pflanzenbauliche Funktionen einer Stoppelbearbeitung sind dabei jedoch zu berücksichtigen.

Die wendende Grundbodenbearbeitung mit dem Streichblechpflug (Varianten 1 und 2) verlagerte besonders in den Versuchen des zweiten Jahres den Großteil der auf der Bodenoberfläche befindlichen Samen hauptsächlich in Bodentiefen, aus denen ein Auflaufen im folgenden Frühjahr nur bedingt möglich war (10 bis 20 cm), während sich die Samen nach lockernder Grundbodenbearbeitung mit dem Grubber (Variante 3) oder bei Direktsaat (Variante 4) vorwiegend oberflächennah (0 bis 10 cm) befanden. Die Anzahl blühender Durchwuchspflanzen im Frühjahr nach dem Sameneintrag war in den Varianten 3 und 4 am größten. Maximal wurden von 10.000 m^{-2} ausgestreuten Samen ca. eine blühende Pflanze m^{-2} , und von ca. 1.300 m^{-2} ausgefallenen Samen 0,7 Pflanzen m^{-2} gefunden. In diesen Varianten lagen offenbar sowohl Bedingungen vor, die Dormanz brachen als auch solche, die eine Etablierung von Pflanzen ermöglichten. Neben den im Frühjahr aus dem Bodensamenvorrat auflaufenden

Pflanzen konnte teilweise eine Überwinterung von im Herbst gekeimten Durchwuchspflanzen beobachtet werden.

Ein Gentransfer über blühenden Durchwuchsrap auf andere Rapsbestände und in Wildpflanzen war auf Grund der Überschneidungen der Blütezeiten möglich. Da der Durchwuchsrap im Winterweizen trotz hohen Befalls mit Schaderregern bis zu 8 (Ernte 2003) oder 60 (Ernte 2002) lebensfähige Samen m^{-2} produzierte, könnten bei transgenem Durchwuchs ungewollt transgene Bestandteile in das Erntegut des Kulturbestandes gelangen. Beim unerkannten Auftreten von Durchwuchsrap in einem Rapsbestand anstelle von Winterweizen werden diese Anteile vermutlich höher sein, da auch Durchwuchspflanzen von den Maßnahmen zur Bestandesführung profitieren.

Kritische Punkte für Gentransfer sind Art und Zeitpunkt der Bodenbearbeitung nach der Ernte und der Zeitpunkt des Auflaufens von Durchwuchsrap nach dem Winter. Eine Ergänzung des Bodensamenvorrats durch neue Samen von Durchwuchsrap ist im Vergleich zum anfänglichen Sameneintrag unbedeutend, so dass im Laufe der Rotation von einer Reduktion des Bodensamenvorrats auszugehen ist. Weite Fruchtfolgen können vorbeugend dazu beitragen, den Bodensamenvorrat niedrig zu halten.

Beim Unterschreiten einer wirtschaftlichen Schadschwelle wird beispielsweise im Getreide eine gezielte Bekämpfung von Durchwuchsrap unterbleiben; die Höhe der Schadschwelle ist beim Auftreten transgener Durchwuchspflanzen gegenüber konventionell gezüchtetem Durchwuchsrap jedoch neu zu definieren.

Insgesamt wurden gravierende Sortenunterschiede in der Überdauerungsneigung von Rapsamen festgestellt. Eine Einflussnahme auf die Überdauerung der Samen im Boden und das Auftreten von Durchwuchsrap ist durch Bodenbearbeitung, insbesondere durch den Zeitpunkt der Stoppelbearbeitung, möglich. Zusammen mit einem vertieften Verständnis der beteiligten Prozesse bietet die Kombination von wenig überdauerungsfähigen Rapsgenotypen mit geeigneten Bodenbearbeitungsmaßnahmen die Möglichkeit, unerwünschten Gentransfer einzuschränken und zu einer kalkulierbaren Größe zu machen.

9 Summary

High losses during harvesting of oilseed rape in combination with secondary dormancy of the seeds can result in a large soil seed bank which may persist for several years. Volunteers emerging from this seed bank cannot be controlled completely, particularly when they develop in another rapeseed population. In addition to well known agricultural problems, the risk of temporal and spatial gene dispersal by persistent seeds and volunteers gets more significant. With regard to genetically modified (GM) cultivars, seed dormancy and persistence of oilseed rape volunteers have to be reconsidered.

The aim of the current study was to investigate the chances for a reduction of seed persistence and gene dispersal by growing specific genotypes and by the implementation of appropriate tillage operations. Four publications describe and discuss experiments in the laboratory and the field on the aspects 'genotype' and 'soil tillage'.

One central point was the characterisation of the genotypic variation of secondary dormancy and seed persistence in GM and conventionally bred oilseed rape cultivars. A gradual approach towards field conditions was performed by three experiments to identify the different genotypes. The first experiment examined potential seed persistence by artificial induction of secondary dormancy in the laboratory. The next experiment was a systematic burial of seeds in the soil for six months on a field. The third experiment examined persistence of seeds actually lost during harvest and exposed afterwards to different tillage operations in a field experiment. Three GM cultivars tolerant to the herbicide Basta[®] (glufosinate) were used in the laboratory and burial experiments. Additionally, the corresponding near-isogenic cultivars and a maximum of 30 other conventionally bred cultivars relevant to German farming were analysed in these experiments, whereas only four cultivars were used in the field experiment. No GM cultivars were grown in the field because of the discussion of the labelling threshold for transgenic parts in food and feed.

All three experiments showed a high genotypic variability in seed dormancy and persistence. In the laboratory the level of secondary dormancy of conventional material was a total of 3–76% and of the GM cultivars 1–31%. The number of persistent seeds in the burial experiment was 7–90% in the conventional assortment and 12–79% in the GM assortment. Seeds from the seed rain of the four conventionally bred cultivars in the field experiment persisted in the soil from 0–11% over six months. A significant, positive correlation was found between the laboratory results for cultivars from two crop years as well as between the results from labo-

ratory and burial experiments. This is an indication for a genetic background of seed dormancy and persistence of oilseed rape, and supports existing hypotheses of a genetic disposition towards secondary dormancy of oilseed rape and of other crop and feral plants. Differences in the absolute level of dormancy or persistence between the experiments may be the result of the conditions of each experiment, in particular, to the less controlled and reproducible environmental conditions in the field.

Several results indicate that the environmental conditions during seed development as well as seed ageing or after-ripening clearly influenced the level of secondary dormancy. Therefore, only freshly harvested seeds from the same site and harvest year should be compared and assessed in future experiments.

It has been demonstrated that a laboratory method for induction of secondary dormancy can describe actual differences of seed persistence in the field. This result gives a chance for screening new cultivars in the laboratory to identify desired, low persistent genotypes. With regard to the risk assessment of GM crops, low or even non-persistent ideotypes would be more suitable for GM traits.

The other focus of the study was the effect of various tillage treatments on seed persistence and seedling recruitment. Although the experiments had originally been planned with GM cultivars, near-isogenic cultivars were used, because the breeders did not provide GM seed for establishing flowering GM oilseed rape given the unclear legal situation at that time.

The seed input resulted from oilseed rape seeds either artificially broadcast (10,000 seeds m⁻²) in summer or actually lost during harvest of oilseed rape on an experimental field (in a mean of 1,300 seeds m⁻²). Four differently intensive tillage operations incorporated the seeds of two near-isogenic cultivars at different times and soil depths, or left the soil untilled. The treatments were: immediate stubble tillage and inverting primary tillage by a mouldboard plough in autumn (T1); stubble tillage delayed for 4 weeks and inverting primary tillage by a mouldboard plough in autumn (T2); immediate stubble tillage and non-inverting primary tillage by a rigid tine cultivator in autumn (T3); zero tillage and direct drilling (T4). Winter wheat was sown as following crop in all treatments whereby no weed control was performed except for the use of a non-selective herbicide to remove all rapeseed volunteers before the seeding of winter wheat.

The highest number of seeds generally entered the soil seed bank in T1 and T3 with immediate stubble tillage. After six months 1–14% of the initial seed input was found again in the soil in these treatments, and in one isolated case about 28%. Delaying the stubble breaking,

the soil seed bank was 0–3%, if primary tillage followed later on (T2); leaving the seeds undisturbed on the soil surface until direct drilling (T4) did not increase the effect of the delay of the first incorporation of seeds into the soil, but resulted in a soil seed bank of 0–17%. The results may be deduced from differently intensive effects of factors that cause secondary dormancy and seed losses in the soil. These factors mainly are low water potential and darkness for an induction of seeds into dormancy, and also fatal germination of non-dormant seeds from deep soil layers. Without disregarding other positive effects of stubble tillage for practical farming, the first tillage operation after harvest of oilseed rape should be performed with some time delay to avoid large soil seed banks.

Soil inversion by a mouldboard plough shifted the majority of seeds into soil horizons (10–20 cm) from where a successful germination was restricted in spring following the seed input. This effect was particularly observed in the second experimental year. In contrast, tillage by a rigid tine cultivator or zero tillage mainly distributed the seeds within the upper soil layer (0–10 cm). Thus the number of flowering volunteers in the first spring was highest in the treatments 3 and 4. A maximum of one volunteer m^{-2} was flowering after 10,000 seeds m^{-2} artificially broadcast, and about 0.7 flowering volunteers m^{-2} after 1,300 seeds m^{-2} lost during harvest. These treatments particularly provided dormancy inducing conditions in autumn, as well as conditions appropriate for germination and seedling emergence in spring. Besides the plants emerging in spring, a number of others had emerged in autumn, having survived the winter and any weed control. These plants developed to particularly robust volunteers.

Gene dispersal from oilseed rape volunteers to other rape crops and feral relatives was possible because their flowering periods overlapped. Since the oilseed rape volunteers were able to produce up to 8 (harvest 2003) or 60 viable seeds m^{-2} (harvest 2002) in a winter wheat crop, despite high levels of damage by pests and diseases, undesired GM seeds could have been part of the harvested crop, if transgenic cultivars had been grown. This proportion would be higher if oilseed rape volunteers grew in a rape crop with appropriate fertilisation and plant protection.

Crucial points for gene dispersal are time and implement of the tillage after a seed input, and the date of volunteer emergence after winter. The recruitment to the seed bank by seeds produced from volunteers can be considered low compared to the seed input during harvest. Thus, a reduction of the soil seed bank can be assumed during the rotation. Wide rotations are to be recommended to keep the soil seed bank small. The direct control of conventionally bred oilseed rape volunteers is due to the economic damage threshold; the level of that

threshold, nevertheless, has to be redefined if GM volunteers occur instead of conventionally ones.

Overall, a high genotypic variability was found for seed persistence of oilseed rape. Tillage operations, particularly the time of stubble tillage, can also influence seed persistence and the occurrence of volunteers. Combined with a thorough knowledge of the processes involved, the selection of low persistent genotypes and adequate tillage operations offer chances to limit or even to avoid undesired gene dispersal from oilseed rape volunteers, and to make gene dispersal a predictable factor.

10 Ausblick

Wenn sich auch bisher bei herbizidtolerantem Raps wissenschaftlich keine nachteiligen Auswirkungen für Mensch und Umwelt durch das Genkonstrukt oder seine Verbreitung zeigen ließen, ist nicht auszuschließen, dass andere Transformationen durchaus Nachteile für die genannten Güter verursachen könnten. Daher ist die Kenntnis der Überdauerungsfähigkeit von Rapssamen ein essentieller Teil der Sicherheitsforschung bei transgenen Kulturpflanzen.

Die in dieser Arbeit erhobenen Daten bilden eine Grundlage für zukünftige Modell- und Szenarienrechnungen zur Abschätzung eines zeitlichen und räumlichen Gentransfers über Durchwuchsraps. Durch das Verständnis der Wirkungsmechanismen bei der Entstehung von Samenüberdauerung und der beteiligten Faktoren können die Ergebnisse modellhaft auch auf andere Rapsorten oder andere transgene Pflanzen mit ähnlicher Biologie übertragen werden.

Mit den deutlichen Hinweisen auf einen genetischen Hintergrund für die Überdauerungsneigung bietet sich die Möglichkeit, bereits bekannte, gering überdauerungsfähige Sorten für den Anbau zu wählen. Zur Freisetzung vorgesehene, transgene Rapsorten ließen sich mit dem methodischen Ansatz im Vorfeld auf ihre Überdauerungsneigung prüfen. Darüber hinaus kann es ein Ziel weiterer züchterischer Arbeiten sein, Ideotypen zu schaffen, die gewünschte agronomische Merkmale oder Qualitätsmerkmale mit einer minimalen Überdauerungsneigung kombinieren.

Die Ergebnisse der Bodenbearbeitungsversuche lassen sich in der landwirtschaftlichen Praxis unmittelbar in Strategien zur Bekämpfung von Durchwuchsraps umsetzen. Hier ist die Multiplikatorfunktion von Beratung, Lehre und Fachpublikationen gefragt, um einen effizienten Wissenstransfer zu ermöglichen. Dem praktizierenden Landwirt kann durch die Vermittlung von Kenntnis und Verständnis der an der Überdauerung beteiligten Prozesse ein Handlungsrahmen gesteckt werden; die Anpassung der Verfahren an die jeweiligen Standortbedingungen muss anschließend auf betrieblicher Ebene und in Eigenverantwortung qualifizierter Betriebsleiter erfolgen.

Eine Kombination von geeigneten pflanzenbaulichen Maßnahmen mit der Züchtung und dem Einsatz wenig überdauerungsfähiger Sorten eröffnet Perspektiven, Durchwuchsraps und damit verbundene pflanzenbauliche Nachteile sowie unerwünschten Gentransfer reduzieren.

Folgende weiterführende Arbeiten sind als Ergänzung der vorliegenden Ergebnisse sinnvoll, um die Überdauerungsfähigkeit von Raps ursächlich zu beschreiben und geeignete Strategien zur Minimierung von Samenüberdauerung und Gentransfer entwickeln zu können:

- Durchführung gezielter züchterischer Maßnahmen zur Untersuchung und Beschreibung des Erbgangs für sekundäre Dormanz bei Raps
- Einbeziehung von Sommerraps in die Untersuchungen
- Identifizierung und Quantifizierung von Einflüssen vor der Ernte auf die Überdauerungsneigung
- Identifizierung möglicher Verlustfaktoren für Samen und Pflanzen im Feld
- Bestimmung des optimalen Zeitpunkts für die erste Bodenbearbeitung nach dem Sameneintrag
- Erstellung eines Schätzrahmens zur Kalkulation der Etablierung von Durchwuchsraps und des Gentransfers anhand von Schadschwellen
- Untersuchung zur Etablierung von Durchwuchsraps in verschiedenen Kulturen (Sommerungen – Winterungen)
- Prüfung der Samenüberdauerung an Standorten mit unterschiedlichen Boden- und Klimaverhältnissen

Die aktuelle rechtliche Lage und die Artikulation einer ablehnenden Haltung der meisten Verbraucher gentechnisch veränderten Produkten gegenüber lassen nach derzeitigem Stand nur wenige Möglichkeiten erkennen, transgene Kulturpflanzen in naher Zukunft in Deutschland wirtschaftlich anzubauen.

Aus der Erfahrung mit stets wieder auftretenden und kontroversen Diskussionen um bestimmte Lebensmittel oder landwirtschaftliche Produktionsweisen geht hervor, dass der Verbraucher mit seiner oft spontanen Haltung allein nicht immer ein verlässlicher Parameter für eine langfristige Entscheidung für oder gegen eine Produktionsweise oder ein Produkt ist. Zusätzlich zur Diskrepanz zwischen artikulierter Präferenz und tatsächlicher Kaufentscheidung überlagern die Faktoren Zeit, Preis und Gewohnheit das Verbraucherverhalten.

Eine Berührung mit Gentechnik ist auch in Zukunft nicht auszuschließen. Neben Anwendungen im medizinischen Bereich werden Produkte angeboten werden, bei denen der Einsatz von gentechnisch veränderten Organismen keiner Deklarierungspflicht unterliegt, wie zum Beispiel die Verwendung von gentechnisch veränderten Futtermitteln oder von Enzymen und Zusatzstoffen in Lebensmitteln. Welchen Effekt dieser alltägliche Umgang mit Produkten aus

gentechnisch veränderten Organismen auf das langfristige Verbraucherverhalten haben wird, bleibt abzuwarten.

Die Landwirtschaft sollte sich einer Entwicklung gentechnischer Verfahren und Sorten in der Weise offen zeigen, dass bei Vorhandensein eines Marktes für derartige Produkte sowohl Wissen als auch praktische Erfahrung verfügbar sind, um sich dieser potenziellen Entwicklung nicht im Vorfeld zu verschließen, sondern sich Optionen auf eine Partizipation vorzubehalten. Gleiches gilt für Wissenschaft und Forschung, zu deren Aufgaben nicht nur Schaffung transgener Organismen und die Anwendung gentechnischer Verfahren in der Grundlagenforschung zählt, sondern auch die Verantwortung, praxisbezogenen Fragestellungen nachzugehen.

Die vorliegende Arbeit versteht sich in dem Sinne, zur sachlichen Diskussion einer kontroversen Materie einen Beitrag zu leisten.

11 Glossar

Ausfallraps: Rapssamen und -pflanzen auf einer unbestellten landwirtschaftlichen Fläche aus Ausfallverlusten von Raps

Bodensamenvorrat: Menge überdauernder Samen im Boden

Dormanz, primäre: Samenruhe während der Samenentwicklung und teilweise längere Zeit nach der Reife

Dormanz, sekundäre: durch Umweltbedingungen nach der Reife eingetretener Zustand der Samenruhe

Durchwuchsraps: in einem Kulturpflanzenbestand auftretende Rapspflanzen aus Ausfallverlusten von Raps

Genotyp: Gesamtheit der Erbanlagen eines Individuums, hier bezogen auf Dormanz

GVO: gentechnisch veränderter Organismus

Ideotyp: Modell eines Individuums mit idealen Eigenschaften für eine bestimmte Nutzungsrichtung

Insert: eingefügte Gensequenz

Keimung, fatale: Absterben von gekeimten Samen, hier vor allem auf Grund zu tiefer Ablage im Boden

nah-isogen: eng verwandt mit einer gentechnisch veränderten Sorte oder Linie; nah-isogene Sorte: in der Regel Ausgangssorte für eine gentechnische Veränderung; genetische Ausstattung im Wesentlichen wie die der transgenen Sorte

Sorte: Gesamtheit von Pflanzen, definiert durch Ausprägung von Merkmalen eines Genotyps oder der Kombination bestimmter Genotypen; rechtlich geschützt

transgen: gentechnisch verändert

Überdauerung: Vorliegen lebensfähiger, ungekeimter Samen unter Feldbedingungen über einen längeren Zeitraum, hier speziell auf Grund von (sekundärer) Dormanz

Überdauerungsfähigkeit: allgemeines Potenzial von Samen, im Boden lebensfähig zu überdauern

Überdauerungsneigung: Disposition zur Überdauerung von Samen; ein grundlegender Faktor hierfür: Dormanz

12 Verzeichnis der gesamten Literatur

Die zusätzliche Kennzeichnung durch Buchstaben bei Literaturstellen, die denselben Erstautor und mehrere Koautoren bei gleichem Erscheinungsjahr haben, gilt nur für Zitate in Einleitung und Gesamtdiskussion. Für die Publikationen ist diese Kennzeichnung bezogen auf jedes einzelne der Kapitel 3–6 in den jeweiligen Literaturverzeichnissen separat vorgenommen worden.

- ALI N., SKIRVIN R.M., SPLITTSTOESSER W.E., HARRY D.E. & GEORGE W.L. (1991). Genetic factors and in vitro manipulations influence seed dormancy in cucumber. *Hortscience* **26**, 1076–1077.
- AMRITPHALE D., GUTCH A. & HSIAO A.I. (1995). Phytochrome-mediated germination control of *Hygrophila auriculata* seeds following dry storage augmented by temperature pulse, hormones, anaerobiosis or osmoticum imbibition. *Environmental and Experimental Botany* **35**, 187–192.
- ANDERSSON S. (1996). Seed size as a determinant of germination rate in *Crepis tectorum* (Asteraceae): evidence from a seed burial experiment. *Canadian Journal of Botany* **74**, 568–572.
- ANDERSSON L. & MILBERG P. (1998). Variation in seed dormancy among mother plants, populations and years of seed collection. *Seed Science Research* **8**, 29–38.
- ANONYMOUS (2003). Food and Agriculture Organization of the United Nations, statistics. Online im Internet: URL: http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp [Stand 16.12.2003].
- ANONYMOUS (2003). Regulation (EC) No 1830/2003 of the European Parliament and the Council of 22 September 2003 concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms and amending Directive 2001/18/EC. *Official Journal of the European Union L 268*, **46**, 18 October 2003, 24–28.
- AUFHAMMER W. (1998). Getreide und andere Körnerfruchtarten. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 560.
- BARANGER A., CHÈVRE A.M., EBER F. & RENARD M. (1995). Effect of oilseed rape genotype on the spontaneous hybridization rate with a weedy species: an assessment of transgene dispersal. *Theoretical and Applied Genetics* **91**, 956–963.
- BASKIN J.M. & BASKIN C.C. (1985). The annual dormancy cycle in buried weed seeds: a continuum. *Bioscience* **35**, 495–498.
- BASKIN C.C. & BASKIN J.M. (1998). *Seeds. Ecology, Biogeography, and Evolution of Dormancy and Germination*. Academic Press San Diego, CA, USA, pp. 666.
- BASKIN C.C., BASKIN J.M. & EL-MOURSEY S.A. (1996). Seasonal changes in germination responses of buried seeds of the weedy summer annual grass *Setaria glauca*. *Weed Research* **36**, 319–324.

- BASKIN J.M., NAN X. & BASKIN C.C. (1998). A comparative study of seed dormancy and germination in an annual and a perennial species of *Senna* (Fabaceae). *Seed Science Research* **8**, 501–512.
- BECKER H.C., DAMGAARD C. & KARLSSON B. (1992). Environmental variation for outcrossing rate in rapeseed (*Brassica napus*). *Theoretical and Applied Genetics* **84**, 303–306.
- BENECH-ARNOLD R.L., SÁNCHEZ R.A., FORCELLA F., KRUK B.C. & GHERSA C.M. (2000). Environmental control of dormancy in weed seed banks in soil. *Field Crops Research* **67**, 105–122.
- BEWLEY J.D. (1997). Seed Germination and dormancy. *The Plant Cell* **9**, 1055–1066.
- BEWLEY J.D. & BLACK M. (1994). *Seeds. Physiology of Development and Germination*. New York, Plenum Press, 199–267.
- BING D.J., DOWNEY R.K. & RAKOW G.F.W. (1996). Hybridizations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the field. *Plant Breeding* **115**, 470–473.
- BMVEL (2003). *Ernährungs- und agrarpolitischer Bericht der Bundesregierung*. Bundesministerium für Verbraucherschutz, Ernährung und Landwirtschaft (Hrsg.), Berlin.
- BÖRNER H. (1995). *Unkrautbekämpfung*. Gustav Fischer Verlag, Jena, pp. 315.
- BOOTH E.J., WALKER K.C., WHYTOCK, G.P. & SOVERO M. (1996). Assessment of the ecological consequences of introducing transgenic rapeseed. *Proceedings of the 4th Congress of the European Society for Agronomy*, 7–11 July, Veldhoven-Wageningen, The Netherlands, 144–145.
- BOUWMEESTER H.J. & KARSSSEN C.M. (1992). The dual role of temperature in the regulation of the seasonal changes in dormancy and germination of seeds of *Polygonum persicaria* L. *Oecologia* **90**, 88–94.
- BOWERMAN P. (1993). Effects of cultivation upon volunteer oilseed rape. *Aspects of Applied Biology* **35**, 163–166.
- BRUST G.E. & HOUSE G.J. (1988). Weed seed destruction by arthropods and rodents in low-input soybean agroecosystems. *American Journal of Alternative Agriculture* **3**, 19–25.
- BURAAS T. & SKINNES H. (1984). Genetic investigations on seed dormancy in barley. *Hereditas* **101**, 235–244.
- CARDINA J. & SPARROW D.H. (1996). A comparison of methods to predict weed seedling populations from the soil seedbank. *Weed Science* **44**, 46–51.
- CASAL J.J. & SÁNCHEZ R.A. (1998). Phytochromes and seed germination. *Seed Science Research* **8**, 317–329.
- CHRISTIAN D.G. & BALL B.C. (1994). Reduced cultivation and direct drilling for cereals in Great Britain. In: *Conservation Tillage in Temperate Agroecosystems*. M.R. Carter (Hrsg.), CRC Press LLC, Boca Raton, Fl., USA, 117–140.

- CHÈVRE A.M., EBER F., BARANGER A., KERLAN M.C., BARRET P., FESTOC G., VALLÉE P. & RENARD M. (1996). Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic *Brassicas*. Proceedings of the ISHS Brassica Symposium, 9th Crucifer Genetics Workshop, Acta Horticulturae **407**, 169–179.
- CHÈVRE A.M., EBER F., DARMENCY H., FLEURY A., PICAULT H., LETANNEUR J.C. & RENARD M. (2000). Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. Theoretical and Applied Genetics **100**, 1233–1239.
- CLEMENTS D.R., BENOIT D.L., MURPHY S.D. & SWANTON C.J. (1996). Tillage effects on weed seed return and seedbank composition. Weed Science **44**, 314–322.
- COLBACH N., CLERMONT-DAUPHIN C., MEYNARD J.M. (2001). GENESYS: a model of the influence of cropping system on gene escape from herbicide tolerant rapeseed crops to rape volunteers. 1. Temporal evolution of a population of rapeseed volunteers in a field. Agriculture, Ecosystems and Environment **83**, 235–253.
- COUSENS R. & MOSS S.R. (1990). A model of the effects of cultivation on the vertical distribution of weed seeds within the soil. Weed Research **30**, 61–70.
- CRAMER N. (1990). Raps: Anbau und Verwertung. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 146.
- CRAWLEY M.J. & BROWN S.L. (1995). Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 motorway. Proceedings of the Royal Society London B **259**, 49–54.
- CRAWLEY M.J., HAILS R.S., REES M., KOHN D. & BUXTON J. (1993). Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. Nature **363**, 620–623.
- CRAWLEY M.J., BROWN S.L., HAILS R.S., KOHN D. & REES M. (2001). Biotechnology: Transgenic crops in natural habitats. Nature **409**, 682–683.
- CUTHBERT J.L. & MCVETTY P.B.E. (2001). Plot-to-plot, row-to-row and plant-to-plant outcrossing studies in oilseed rape. Canadian Journal of Plant Science **81**, 657–664.
- DBV & UFOP (2003). Nachwachsende Energien. Deutscher Bauernverband e.V. und Union zur Förderung von Öl- und Proteinpflanzen e.V. (Hrsg.), Sonderdruck, Bonn.
- DARMENCY H., LEFOL E. & FLEURY A. (1998). Spontaneous hybridizations between oilseed rape and wild radish. Molecular Ecology **7**, 1467–1473.
- DEKKER J. (1999). Soil weed seed banks and weed management. In: Expanding the Context of Weed Management. D. Buhler (Hrsg.), Haworth Press Inc., New York, 139–165.
- DE PAUW R.M. & MCCRAIG T.N. (1983). Evidence for a genetic mechanism controlling seed dormancy independent of seed colour. Proceedings of the 6th International Wheat Genetics Symposium, Kyoto, Japan, 629–633.
- DE PAUW R.M. & MCCRAIG T.N. (1991). Components of variation, heritabilities and correlations for indices of sprouting tolerance and seed dormancy in *Triticum* ssp. Euphytica **52**, 221–229.

- DESSAINT F., CHADOEUF R. & BARRALIS G. (1997). Nine years' soil seed bank and weed vegetation relationships in an arable field without weed control. *Journal of Applied Ecology* **34**, 123–130.
- DONGUS S., GRUBER S. & CLAUPEIN W. (2003). Ausbildung sekundärer Dormanz bei Rapssamen in Abhängigkeit von der Samengröße und der Position an der Mutterpflanze. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **15**, 346–347.
- DORNE A.-J. (1981). Variation in seed germination inhibition of *Chenopodium bonus-henricus* in relation to altitude of plant growth. *Canadian Journal of Botany* **59**, 1893–1901.
- DOUCET C. & CAVERS P.B. (1997). Induced dormancy and colour polymorphism in seeds of the bull thistle *Cirsium vulgare* (Savi) Ten. *Seed Science Research* **7**, 399–407.
- DOWNEY R.K. (1999). Gene flow and rape – the Canadian experience. Proceedings of the BCPC Symposium 'Gene flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops', 12–14 April 1999, Keele, United Kingdom, **72**, 109–116.
- DYER W.E. (1995). Exploiting weed seed dormancy and germination requirements through agronomic practices. *Weed Science* **43**, 498–503.
- EHLERS W. & CLAUPEIN W. (1994). Approaches toward conservation tillage in Germany. In: *Conservation Tillage in Moderate Agroecosystems*. M.R. Carter (Hrsg.), CRC Press LLC, Boca Raton, FL., USA, 141–165.
- FAO (2004). Food and Agriculture Organization of the United Nations, statistics. Online im Internet: URL: http://www.fao.org/waicent/portal/statistics_en.asp [Stand 23. 03. 2004].
- EGLEY G.H. & DUKE S.O. (1985). Physiology of weed seed dormancy and germination. In: *Weed Physiology Vol. I: Reproduction & Ecophysiology*. S.O. Duke (Hrsg.), CRC Press LLC, Boca Raton, USA, 27–64.
- FENNER M. (1991). The effects of the parent environment on seed germinability. *Seed Science Research* **1**, 75–84.
- FENNIMORE S.A., NYQUIST W.E., SHANER G.E., DOERGE R.W. & FOLEY M.E. (1999). A genetic model and molecular markers for wild oat (*Avena fatua* L.) seed dormancy. *Theoretical and Applied Genetics* **99**, 711–718.
- FNR (2004). Fachagentur Nachwachsende Rohstoffe e.V.: Anbauflächen in Deutschland. Online im Internet: URL: <http://www.fnr-server.de/cms35/index.php?id=64> [Stand 02.06.2004].
- FLINTHAM J.E. (2000). Different genetic components control coat-imposed and embryo-imposed dormancy in wheat. *Seed Science Research* **10**, 43–50.
- FOLEY M.E. (2001). Seed dormancy: an update on terminology, physiological genetics, and quantitative trait loci regulating germinability. *Weed Science* **49**, 305–317.
- FOLEY M.E. & FENNIMORE S.A. (1998). Genetic basis for seed dormancy. *Seed Science Research* **8**, 173–182.

- FÖRSTER K., SCHUSTER C., BELTER A. & DIEPENBROCK W. (1998). Agrarökologische Auswirkungen des Anbaus von transgenem herbizidtoleranten Raps. Bundesgesundheitsblatt **12**, Sonderdruck, 547–552.
- FROUD-WILLIAMS R.J., HILTON J.R. & DIXON J. (1986). Evidence for an endogenous cycle of dormancy in dry stored seeds of *Poa trivialis* L. The New Phytologist **102**, 123–131.
- GARBUTT K. & WITCOMBE J.R. (1986). The inheritance of seed dormancy in *Sinapis arvensis* L. Heredity **56**, 25–31.
- GARELLO G. & LE PAGE-DEGIVRY M.T. (1999). Evidence for the role of abscisic acid in the genetic and environmental control of dormancy in wheat (*Triticum aestivum* L.). Seed Science Research **9**, 219–226.
- GASKELL G., ALLUM N. & STARES S. (2003). Europeans and Biotechnology in 2002 (Eurobarometer 58.0), a Report to the European Commission Directorate General for Research. Online im Internet: URL: http://www.europa.eu.int./comm/public_opinion/archives/eb/ebs_177_en.pdf [Stand 29.12.2003].
- GENEVE R.L. (1998). Seed dormancy in commercial vegetable and flower species. Seed Technology **20**, 236–250.
- GHERSA C.M., BENECH-ARNOLD R.L. & MARTINEZ-GHERSA M.A. (1992). The role of fluctuating temperatures in germination and establishment of *Sorghum halepense*. Regulation of germination at increasing depths. Functional Ecology **6**, 460–468.
- GÖTZ R. & AMMER F. (2000). Ergebnisse der Anwendung von Liberty in transgenem Winterraps in Thüringen. Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue **XVII**, 397–401.
- GRUBER S. & CLAUPEIN W. (2004). Secondary dormancy of oilseed rape: first aspects of heredity. Proceedings of the 4th International Crop Science Congress, 26 September–1 October 2004, Brisbane, Australia, eingereicht.
- GRUBER S., PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2002). Variation of secondary dormancy in genetically modified and conventionally bred oilseed rape. Proceedings of the 7th Congress of the European Society for Agronomy, 15–18 July, Córdoba, Spain, 187–188.
- GRUBER S., PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2002). Einfluss von Genotyp und Bodenbearbeitung auf den Bodensamenvorrat von Ausfallraps. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften **14**, 169–170.
- GRUBER S., PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2003). Seed persistence of genetically modified and conventionally bred oilseed rape in laboratory and burial experiments. Proceedings of the 11th International Rapeseed Congress, 6–10 July, Copenhagen, Denmark, 876–878.
- GRUBER S., PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2003). Life cycle and gene dispersal of oilseed rape volunteers (*Brassica napus* L.). Proceedings of the BCPC International Congress ‘Crop Science and Technology’, 10–12 November, Glasgow, Scotland, United Kingdom, 1093–1098.

- GRUBER S., PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2004). Reducing oilseed rape (*Brassica napus*) volunteers by selecting genotypes with low seed persistence. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XIX*, 151–159.
- GRUBER S., PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2004). Population dynamics of volunteer oilseed rape (*Brassica napus* L.) affected by tillage. *European Journal of Agronomy* **20**, 351–361.
- GULDEN R.H. (2003). Secondary dormancy and the seedbank ecology of *Brassica napus* in western Canada. PhD thesis, University of Saskatchewan, Saskatoon, Canada.
- GULDEN R.H., SHIRTLIFFE S.J. & THOMAS A.G. (2003). Harvest losses of canola (*Brassica napus*) cause large seedbank inputs. *Weed Science* **51**, 83–86.
- GULDEN R.H., THOMAS A.G. & SHIRTLIFFE S.J. (2004). Relative contribution of genotype, seed size and environment to secondary seed dormancy potential in Canadian spring oilseed rape (*Brassica napus*). *Weed Research* **44**, 97–106.
- HACKENBERG E.M. & KÖHLER W. (1996). Use of isozyme analysis in the breeding of synthetic rapeseed cultivars. *Plant Breeding* **115**, 474–479.
- HAILS R.S., REES M., KOHN D.D. & CRAWLEY M.J. (1997). Burial and seed survival in *Brassica napus* subsp. *oleifera* and *Sinapis arvensis* including a comparison of transgenic and non-transgenic lines of the crop. *Proceedings of the Royal Society London B* **264**, 1–7.
- HANF M. (1990). *Farbatlas Feldflora: Wildkräuter und Unkräuter*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 254.
- HANSEN L.B., SIEGISMUND H.R. & JØRGENSEN R.B. (2001). Introgression between oilseed rape (*Brassica napus* L.) and its weedy relative *B. rapa* L. in a natural population. *Genetic Resources and Crop Evolution* **48**, 621–627.
- HAUSER T.P., SHAW R.G. & ØSTERGÅRD H. (1998). Fitness of F₁ hybrids between weedy *Brassica rapa* and oilseed rape (*B. napus*). *Heredity* **81**, 429–435.
- HILHORST H.W.M. (1995). A critical update on seed dormancy. I. Primary dormancy. *Seed Science Research* **5**, 61–73.
- HILHORST H.W.M. & TOOROP P.E. (1997). Review on dormancy, germinability, and germination in crop and weed seeds. *Advance in Agronomy* **61**, 111–165.
- HOMMEL B. & PALLUT B. (2004). Bewertung von Glufosinat-resistentem Durchwuchsrapis im Rahmen der Fruchtfolge. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XIX*, 887–894.
- HONEK A. & MARTINKOVA Z. (2003). Seed consumption by ground beetles. *Proceedings of the BCPC International Congress 'Crop Science and Technology'*, 10–12 November, Glasgow, Scotland, United Kingdom, 451–456.
- HÜHN M. & RAKOW G. (1979). Einige experimentelle Ergebnisse zur Fremdbefruchtungsrate bei Winterraps (*Brassica napus oleifera*) in Abhängigkeit von Sorte und Abstand. *Zeitschrift für Pflanzenzüchtung* **83**, 289–307.

- HUME L. (1994). Maternal environment effects on plant growths and germination of two strains of *Thlaspi arvense* L. *International Journal of Plant Sciences* **155**, 180–186.
- INARO (2004). Anbaufläche nachwachsender Rohstoffe in Deutschland: Gesamt- und Stilllegungsflächen. Online im Internet:
URL: [http:// www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFFE/statDTnawaro.htm](http://www.inaro.de/Deutsch/ROHSTOFFE/statDTnawaro.htm) [Stand 02.06.2004].
- JAMES C. (2003). Preview: Global Status of Commercialized Transgenic Crops. *ISAAA Briefs* **30**, Ithaca, NY, USA.
- JAMES T.K., RAHMAN A., WEBSTER T. & WALLER J. (2002). Emergence of weeds as affected by vertical seed distribution in arable soils. *New Zealand Plant Protection* **55**, 213–217.
- JØRGENSEN R.B. & ANDERSEN B. (1994). Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae): a risk of growing genetically modified oilseed rape. *American Journal of Botany* **81**, 1620–1626.
- JØRGENSEN R.B., ANDERSEN B., LANDBO L. & MIKKELSEN T.R. (1996). Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy relatives. *Proceedings of the ISHS Brassica Symposium, 9th Crucifer Genetics Workshop, Acta Horticulturae* **407**, 193–197.
- KARSSSEN C.M. (1980/81). Environmental conditions and endogenous mechanisms involved in secondary dormancy of seeds. *Israel Journal of Botany* **29**, 45–64.
- KEGODE G.O. & PEARCE R.B. (1998). Influence of environment during maternal plant growth on dormancy of shattercane (*Sorghum bicolor*) and giant foxtail (*Setaria faberi*) seed. *Weed Science* **46**, 322–329.
- KERLAN M.C., CHÈVRE A.M., EBER F., BARANGER A. & RENARD M. (1992). Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed to related species: I. Interspecific hybrid production under optimal conditions with emphasis on pollination and fertilization. *Euphytica* **62**, 145–153.
- KHARE D. & SINGH C.B. (1984). Inheritance of seed dormancy in *Vicia faba* L. *FABIS Newsletter* **8**, 4–5.
- KOCH W. (1970). *Unkrautbekämpfung*. Verlag Eugen Ulmer, Stuttgart, pp. 342.
- KOHOUT V. & SOUKUP J. (1996). Problematik von Winterraps (*Brassica napus* L.) als Unkrautpflanze und einige Möglichkeiten ihrer Lösung. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue* **XV**, 291–293.
- KÖLLER K. (2003). Techniques of soil tillage. In: *Soil Tillage in Agroecosystems*. A. El Titi (Hrsg.), CRC Press LLC, Boca Raton, Fl., USA, 1–25.
- KOORNNEEF M., BENTSINK L. & HILHORST H. (2002). Seed dormancy and germination. *Current Opinion in Plant Biology* **5**, 33–36.
- LANDBO L. & JØRGENSEN R.B. (1997). Seed germination in weedy *Brassica campestris* and its hybrids with *B. napus*: implications for risk assessment of transgenic oilseed rape. *Euphytica* **97**, 209–216.

- LANE M.D. & LAWRENCE M.J. (1995). Genetics of seed dormancy in *Papaver rhoeas*. *Heredity* **75**, 84–91.
- LECK M.A., PARKER V.T & SIMPSON R.L. (1989). *Ecology of Soil Seed Banks*. Academic Press, Inc., San Diego, USA, pp. 462.
- LÉGÈRE A., SIMARD M.-J., THOMAS A.G., PAGEAU D., LAJEUNESSE J., WARWICK S.I. & DERKSEN D.A. (2001). Presence and persistence of volunteer canola in Canadian cropping systems. *Proceedings of the Brighton Crop Protection Conference – Weeds*, 12–15 November, Brighton, United Kingdom, 143–148.
- LEFOL E., DANIELOU V. & DARMENCY H. (1996a). Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research* **45**, 153–161.
- LEFOL E., FLEURY A., DARMENCY H. (1996b). Gene dispersal from transgenic crop. II. Hybridization between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Sexual Plant Reproduction* **9**, 189–196.
- LI B. & FOLEY M.E. (1997). Genetic and molecular control of seed dormancy. *Trends in Plant Science* **2**, 384–389.
- LINDER C.R. (1998). Potential persistence of transgenes: seed performance of transgenic canola and wild x canola hybrids. *Ecological Applications* **8**, 1180–1195.
- LINDER C.R. & SCHMITT J. (1995). Potential persistence of escaped transgenes: performance of transgenic, oil-modified *Brassica* seeds and seedlings. *Ecological Applications* **5**, 1056–1068.
- LITTELL R.C., MILLIKEN G.A., STROUP W.W. & WOLFINGER R.D. (1996). SAS[®] System for Mixed Models. SAS Institute Inc. Cary, North Carolina, USA, pp. 633.
- LÓPEZ-GRANADOS F. & LUTMAN P.J.W. (1998). Effect of environmental conditions on the dormancy and germination of volunteer oilseed rape seed (*Brassica napus*). *Weed Science* **46**, 419–423.
- LUTMAN P.J.W. (2004). Persönliche Mitteilung.
- LUTMAN P.J.W. (1993). The occurrence and persistence of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). *Aspects of Applied Biology* **35**, 29–36.
- LUTMAN P.J.W., LÓPEZ-GRANADOS F. & PEKRUN C. (1994). The biology and control of volunteer oilseed rape. *Proceedings of the Home Grown Cereals Authority (HGCA) Oilseeds R&D Conference*, 9 November, Wicksteed Park, Kettering, United Kingdom, 5.1–5.11.
- LUTMAN P.J.W., PETERS N.C.B. & FREEMAN S.E. (2002). Post-harvest weed seed predation: an *Avena fatua* case study. *Proceedings of the 12th EWRS Symposium*, Arnhem/Wageningen, 24–27 June, The Netherlands, 270–271.
- LUTMAN P.J.W., FREEMAN S.E. & PEKRUN C. (2003). The long-term persistence of seeds of oilseed rape (*Brassica napus*) in arable fields. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* **141**, 231–240.

- LÜTKE ENTRUP N. & OEHMICHEN J. (2002). Lehrbuch des Pflanzenbaues, Bd. 2: Kulturpflanzen. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer, pp. 856.
- MAHN E.-G. (2002). Biologie und Ökologie der Unkräuter. In: Unkraut. Ökologie und Bekämpfung. P. Zwerger & H.U. Ammon (Hrsg.), Verlag Eugen Ulmer GmbH & Co., Stuttgart, 21–78.
- MESSEAN A. (2004). Persönliche Mitteilung.
- METZ P.L.J., JACOBSEN E. & STIEKEMA W. J. (1997). Occasional loss of expression of phosphinotricin tolerance in sexual offspring of transgenic oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Euphytica* **98**, 189–196.
- MICHEL B.E. & KAUFMANN M.R. (1979). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology* **51**, 914–916.
- MOHLER C.L. (1993). A model of the effects of tillage on emergence of weed seedlings. *Ecological Applications* **3**, 53–73.
- MOHLER C.L. & CALLOWAY M.B. (1992). Effects of tillage and mulch on the emergence and survival of weeds in sweet corn. *Journal of Applied Ecology* **29**, 21–34.
- MOMOH E.J.J., ZHOU W.J. & KRISTIANSSON B. (2002). Variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape genotypes under conditions of stress. *Weed Research* **42**, 446–455.
- MORGAN C.L., LADBROOKE Z.L., BRUCE D.M., CHILD R. & ARTHUR A.E. (2000). Breeding oilseed rape for pod shattering resistance. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* **135**, 347–359.
- MORRIS W.F., KAREIVA P.M. & RAYMER P.L. (1994). Do barren zones and pollen traps reduce gene escape from transgenic crops? *Ecological Applications* **4**, 157–165.
- MULUGETA D. & STOLTENBERG D.E. (1997). Weed and seedbank management with integrated methods as influenced by tillage. *Weed Science* **45**, 706–715.
- MUNIR J., DORN L.A., DONOHUE K. & SCHMITT J. (2001). The effect of maternal photoperiod on seasonal dormancy in *Arabidopsis thaliana* (Brassicaceae). *American Journal of Botany* **88**, 1240–1249.
- NAYLOR J.M. & JANA S. (1976). Genetic adaption for seed dormancy in *Avena fatua*. *Canadian Journal of Botany* **54**, 306–312.
- NAYLOR R.E.L. & ABDALLA A.F. (1982). Variation in germination behaviour. *Seed Science & Technology* **10**, 67–76.
- NYACHIRO J.M., CLARKE F.R., DE PAUW R.M., KNOX R.E. & ARMSTRONG K.C. (2002). Temperature effects on seed germination and expression of seed dormancy in wheat. *Euphytica* **126**, 123–127.
- PAHKALA K. & SANKARI H. (2001). Seed loss as a result of pod shatter in spring rape and spring turnip rape in Finland. *Agricultural and Food Science in Finland* **10**, 209–216.

- PEKRUN C. (1994). Untersuchungen zur sekundären Dormanz bei Raps (*Brassica napus* L.). Dissertation, Georg-August University Göttingen, Göttingen.
- PEKRUN C. (2003). Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Überdauerung von Samen und andere pflanzenbauliche Parameter unter besonderer Berücksichtigung der Populationsdynamik von Ausfallraps. Habilitationsschrift, Universität Hohenheim, Stuttgart.
- PEKRUN C. & BAEUMER K. (1991). Dormanzverhalten von Rapssamen im Temperaturverlauf eines Jahres. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften **4**, 71–74.
- PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (1999). Bedeutung der Stoppelbearbeitung als pflanzenbauliche Maßnahme zur indirekten Unkrautkontrolle. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften **12**, 59–60.
- PEKRUN C. & CLAUPEIN W. (2002). Zu den Ausfallverlusten von Raps sowie der Verteilung von Rapssamen und -stroh nach der Ernte. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften **14**, 191–192.
- PEKRUN C., LUTMAN P.J.W. & LÓPEZ-GRANADOS F. (1996). Population dynamics of volunteer rape and possible means of control. Proceedings of the 2nd International Weed Control Congress, 25–28 June, Copenhagen, Denmark, 1–6.
- PEKRUN C., LUTMAN P.J.W. & BAEUMER K. (1997). Germination behaviour of dormant oilseed rape seeds in relation to temperature. Weed Research **37**, 419–431.
- PEKRUN C., LUTMAN P.J.W. & BAEUMER K. (1997a). Induction of secondary dormancy in rape seeds (*Brassica napus* L.) by prolonged imbibition under conditions of water stress or oxygen deficiency in darkness. European Journal of Agronomy **6**, 245–255.
- PEKRUN C., POTTER T.C. & LUTMAN P.J.W. (1997b). Genotypic variation in the development of secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. Proceedings of the 1997 Brighton Crop Protection Conference – Weeds, 17–20 November, Brighton, United Kingdom, 243–248.
- PEKRUN C., HEWITT J.D.J. & LUTMAN P.J.W. (1998). Cultural control of volunteer oilseed rape (*Brassica napus*). Journal of Agricultural Science (Cambridge) **130**, 155–163.
- PEKRUN C., LUTMAN P.J.W. & BAEUMER K. (1998). Research on volunteer rape: a review. Pflanzenbauwissenschaften **2**, 84–90.
- PEKRUN C., RIFFEL H., ALBERTINI A., LUTMAN P.J.W. & CLAUPEIN W. (1998). Einfluss der Bodenbearbeitung auf die Ausbildung einer Samenbank bei Raps – Ergebnisse von sechs Standorten in England und einem in Österreich. Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften **11**, 53–54.
- PEKRUN C., LANE P.W. & LUTMAN P.J.W. (1999). Modelling the potential for gene escape via the soil seedbank: its relevance for genetically modified cultivars. Proceedings of the BCPC Symposium ‘Gene Flow and Agriculture: Relevance for Transgenic Crops’, 12–14 April 1999, Keele, United Kingdom, **72**, 101–106.

- PEKRUN C., EL TITI A. & CLAUPEIN W. (2003). Implications of soil tillage for crop and weed seeds. In: Soil Tillage in Agroecosystems. A. El Titi (Hrsg.), CRC Press LLC, Boca Raton, Fl., USA, 115–146.
- PERTL M., HAUSER T.P., DAMGAARD C. & JØRGENSEN R.B. (2002). Male fitness of oilseed rape (*Brassica napus*), weedy *B. rapa* and their F₁ hybrids when pollinating *B. rapa*. *Heredity* **89**, 212–218.
- PFEILSTETTER E., MATZK A., SCHIEMANN J. & FELDMANN S.D. (1998). Untersuchungen zum Auskreuzungsverhalten von Basta[®]-tolerantem Winterraps auf nicht transgenen Raps (*Brassica napus*). *Mitteilungen aus der Biologischen Bundesanstalt* **357**, 121.
- PESSER F.D., LECOMTE J., EMERIAU V., KROUTI M., MESSEAN A. & GOUYON P.H. (2001). Persistence of oilseed rape (*Brassica napus* L.) outside cultivated fields. *Theoretical and Applied Genetics* **102**, 841–846.
- PRICE J.S., HOBSON R.N., NEALE M.A. & BRUCE D.M. (1996). Seed losses in commercial harvesting of oilseed rape. *Journal of Agricultural Engineering Research* **65**, 183–191.
- RAHMAN A., JAMES T.K., MELLISOP J. & GRBAVAC N. (2000). Effect of cultivation methods on weed seed distribution and seedling emergence. *New Zealand Plant Protection* **53**, 28–33.
- RAPS-FÖRDERUNGS-FONDS (1986). Raps auf neuen Wegen. 00-Sorten in Züchtung, Anbau und Verwendung. Verlag Th. Mann, Gelsenkirchen-Buer, pp. 98.
- RAKOW G. & WOODS D.L. (1987). Outcrossing in rape and mustard under Saskatchewan prairie conditions. *Canadian Journal of Plant Science* **67**, 147–151.
- RAUBER R. (1985). Untersuchungen zur Ökologie der Dormanz bei Wintergerste (*Hordeum vulgare* L.) und zum Überdauern von Ausfallgerste im Boden. Habilitationsschrift, Georg-August-Universität Göttingen, Göttingen.
- REISMAN-BERMAN O., KIGEL J. & RUBIN B. (1991). Dormancy patterns in buried seeds of *Datura ferox* and *D. stramonium*. *Canadian Journal of Botany* **69**, 173–179.
- RIEGER M.A., LAMOND M., PRESTON C., POWLES S.B. & ROUSH R.T. (2002). Pollen-mediated movement of herbicide resistance between commercial canola fields. *Science* **296**, 2386–2388.
- ROGER-ESTRADE J., COLBACH N., LETERME P., RICHARD G. & CANEILL J. (2001). Modelling vertical and lateral weed seed movements during mouldboard ploughing with a skim-coulter. *Soil and Tillage Research* **63**, 35–49.
- ROLLER A., BEISMANN H. & ALBRECHT H. (2002). Persistence of genetically modified, herbicide-tolerant oilseed rape – first observations under practically relevant conditions in South Germany. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVIII*, 255–260.
- ROLLER A., BEISMANN H. & ALBRECHT H. (2003). The influence of soil cultivation on the seedbank of GM-herbicide tolerant and conventional oilseed rape. *Aspects of Applied Biology* **69**, 131–135.

- SAURE C., KÜHNE S. & HOMMEL B. (1999). Untersuchungen zum Pollentransfer von transgenem Raps auf verwandte Kreuzblütler durch Wind und Insekten. Tagungsband BMBF Statusseminar, 29–30 Juni, Braunschweig, 111–119.
- SCHEFFLER J.A., PARKINSON R. & DALE P.J. (1993). Frequency and distance of pollen dispersal from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*). *Transgenic Research* **2**, 356–364.
- SCHEFFLER J.A., PARKINSON R. & DALE P.J. (1995). Evaluating the effectiveness of isolation distances for field plots of oilseed rape (*Brassica napus*) using a herbicide-resistance transgene as a selectable marker. *Plant Breeding* **114**, 317–321.
- SCHLINK S. (1993). Primäre Dormanz bei Körnerrapssorten. *Mitteilungen der Gesellschaft für Pflanzenbauwissenschaften* **6**, 153–156.
- SCHLINK S. (1994). Ökologie der Keimung und Dormanz von Körnerraps (*Brassica napus* L.) und ihre Bedeutung für eine Überdauerung der Samen im Boden. Dissertation, Georg-August University Göttingen, Göttingen.
- SCHLINK S. (1995). Überdauerungsvermögen und Dormanz von Rapssamen (*Brassica napus* L.) im Boden. Proceedings of the 9th Symposium of the European Weed Research Society, 10–12 July, Budapest, Hungary, 65–72.
- SCHLINK S. (1998). 10 years survival of rape seed (*Brassica napus* L.) in soil. *Journal of Plant Diseases and Protection, Special Issue XVI*, 169–172.
- SCHRÖDER-LEMBKE G. (1976). Die Entwicklung des Raps- und Rübsenanbaus in der deutschen Landwirtschaft. *Zeitschrift für Agrargeschichte und Agrarsoziologie* **24**, 145–160.
- SIMARD M.-J., LÉGÈRE A., PAGEAU D., LAJEUNESSE J. & WARWICK S. (2002). The frequency and persistence of volunteer canola (*Brassica napus*) in Québec cropping systems. *Weed Technology* **16**, 433–439.
- SIMPSON E.C., NORRIS C.E., LAW J.R., THOMAS J.E. & SWEET J.B. (1999). Gene flow in genetically modified herbicide tolerant oilseed rape (*Brassica napus*) in the UK. Proceedings of the BCPC Symposium 'Gene Flow and Agriculture – Relevance for Transgenic Crops', 12–14 April, Keele, United Kingdom, **72**, 75–81.
- SQUIRE G.R. (1999). Temperature and heterogeneity of emergence time in oilseed rape. *Annals of Applied Biology* **135**, 439–447.
- STANILAND B.K., MCVETTY P.B.E., FRIESEN L.F., YARROW S., FREYSSINET G. & FREYSINNET M. (2000). Effectiveness of border areas in confining the spread of transgenic *Brassica napus* pollen. *Canadian Journal of Plant Science* **80**, 521–526.
- STRAUß R., BLEIHOLDER H., VAN DEN BOOM T., BUHR L., HACK H., HEß M., KLOSE R., MEIER, U. & WEBER E. (1994). Einheitliche Codierung der phänologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyle Pflanzen. Erweiterte BBCH-Skala. Ciba-Geigy AG, Basel.
- SUMMERS J.E., BRUCE D.M., VANCANNEYT G., REDIG P., WERNER C.P., MORGAN C. & CHILD R.D. (2003). Pod shatter resistance in the resynthesized *Brassica napus* line DK 142. *Journal of Agricultural Science (Cambridge)* **140**, 43–52.

- SWANTON C.J., SHRESTHA A., KNEZEVIC S.Z., ROY R.C. & BALL-COELHO B.R. (2000). Influence of tillage type on vertical weed seedbank distribution in a sandy soil. *Canadian Journal of Plant Science* **80**, 455–457.
- TRANSGEN (2004). Gentechnisch veränderte Pflanzen: Zulassungen weltweit. Raps (Canola). Online im Internet: URL: http://www.transgen.de/Anwendung/Pflanzen/Zulassung/raps_zul.html [Stand 23. 03. 2004].
- TIMMONS A.M., O'BRIEN E.T., CHARTERS Y.M., DUBBELS S.J. & WILKINSON M.J. (1995). Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. *Euphytica* **85**, 417–423.
- THOMAS T.H., BIDDINGTON N.L. & O'TOOLE D.F. (1979). Relationship between position on the parent plant and dormancy characteristics of seeds of three cultivars of celery (*Apium graveolens*). *Physiologia Plantarum* **45**, 492–496.
- URBANSKA K.M. (1992). Populationsbiologie der Pflanzen. Gustav Fischer Verlag, Stuttgart, pp. 374.
- VANASSE A. & LEROUX G.D. (2000). Floristic diversity, size, and vertical distribution of the weed seedbank in ridge and conventional tillage systems. *Weed Science* **48**, 454–460.
- VLEESHOUWERS L.M., BOUWMEESTER H.J. & KARSSSEN C.M. (1995). Redefining seed dormancy: an attempt to integrate physiology and ecology. *Journal of Ecology* **83**, 1031–1037.
- WALKER R.L., BOOTH E.J. & WALKER K.C. (2000). Oilseed rape with modified fatty acid profiles: are GM volunteers likely to be a problem? *Aspects of Applied Biology* **62**, 85–88.
- WESTERMAN P.R., HOFMAN A., VET L.E.M. & VAN DER WERF W. (2003). Relative importance of vertebrates and invertebrates in epigeaic weed seed predation in organic cereal fields. *Agriculture, Ecosystems and Environment* **95**, 419–425.
- WRIGHT K.J., SEEVERS G.P., PETERS N.C.B. & MARSHALL M.A. (1999). Influence of soil moisture on the competitive ability and seed dormancy of *Sinapis arvensis* in spring wheat. *Weed Research* **39**, 309–317.
- ZMP (2003). ZMP Marktbilanz: Getreide, Ölsaaten, Futtermittel. ZMP Zentrale Markt- und Preisberichtsstelle GmbH (Hrsg. und Verlag), Bonn, pp.236.

Danksagung

Ich danke Herrn Prof. Dr. Claupein für das Vertrauen, das er in meine Arbeit und mich gesetzt hat, seit er mir im März 2001 das Thema für die vorliegende Dissertation überließ. Prof. Claupein hat mir unter subtiler Führung im Planen und Handeln stets dasjenige Maß an Unterstützung und Freiheit gewährt, das mich immer an meine Arbeit glauben ließ, meine fachliche Weiterentwicklung gefördert und meine Kompetenz gestärkt hat. Dieser Handlungsrahmen ist mir Basis und Motivation zugleich gewesen.

Herrn Prof. Dr. Kruse danke ich für sein reges Interesse an meiner Arbeit, die Bereitschaft, sich als Zweitgutachter zur Verfügung zu stellen und für zahlreiche fachliche Anregungen.

Weiterhin gilt mein Dank Frau PD Dr. Carola Pekrun, auf deren umfangreiches Wissen und Literatur ich stets zurückgreifen konnte. Sie hat mir Wege gezeigt und Türen aufgestoßen, die mich auf meinen weiteren beruflichen Werdegang führen werden.

Ohne die praktische und kreative Unterstützung der Kolleginnen und Kollegen auf dem Ihinger Hof wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen. Stellvertretend für den Beitrag aller zum Gelingen der Feldversuche möchte ich Helmut Kärcher danken, auf den ich mich stets verlassen konnte und der immer Zeit für meine Fragen hatte. Seine Aufgeschlossenheit Neuem gegenüber, seine Geduld und sein Erfindergeist waren entscheidende Faktoren für eine erfolgreiche Arbeit.

Wertvolle Unterstützung fand ich bei Herrn Prof. Dr. Piepho und Dr. Andreas Büchse, die mir bei der Verrechnung der Daten behilflich waren.

Im Labor haben mich Andrea Rückle und viele studentische Helferinnen und Helfer unterstützt. Mit Sara Dongus, Michael Lang, Ulrike Egerer, Uwe Häußermann, Silja Tribuhl und Alissa Schick hatte ich das Glück, gewissenhafte und aufgeweckte Menschen gefunden zu haben, die mir gerade bei Arbeitsspitzen viele Mühe abgenommen haben. Inge Matthies hat mir geholfen, meine Literaturrecherchen zu bewältigen.

Allen nicht namentlich genannten Kolleginnen und Kollegen des Instituts für Pflanzenbau und Grünland möchte ich für die angenehme Arbeitsatmosphäre danken, zu der jeder seinen Teil beigetragen hat.

Unverzichtbar war der Rückhalt, den mir mein Mann in den zurückliegenden drei Jahren gegeben hat.

Diese Arbeit wurde vom Bundesministerium für Bildung und Forschung als Teilvorhaben 3 im Verbundprojekt "Potenzielle Auswirkungen des Anbaus von transgenem Raps" (Förderkennzeichen 0312628C) finanziell gefördert.