

# Neues über den Ursprung des Brotweizens

T. LELLEY, M. STACHEL, H. GRAUSGRUBER und H. VOLLMANN

## Einleitung

Mittlerweile ist vielfach belegt, dass der heutige hexaploide Brotweizen (*Triticum aestivum* AABBDD) aus einem Hybridisierungsereignis zwischen dem tetraploiden *T. turgidum* (AABB) und dem diploiden Ziegenras (*Aegilops tauschii*) hervorging. Dieses Ereignis wird in die Zeit um etwa 6000 bis 5000 v.Chr. datiert.

Da von *T. aestivum* keine eigentliche Wildform existiert, wird angenommen, dass diese Spezies während der Kultivierung von tetraploidem Weizen entstand und durch mehr oder weniger bewusste Selektion erhalten blieb bzw. gefördert wurde. Heute noch findet man in Weizen-Feldern im Iran solche neu entstandenen Hybride zwischen tetraploidem Weizen und *Ae. tauschii* (Zohary and Hopf 1993).

In diesem Zusammenhang stellen sich noch immer die Fragen, wo und wie oft der heutige Brotweizen letztendlich entstanden ist: Ob eine nähere Bestimmung des Entstehungsortes möglich ist, ob der hexaploide Weizen monophyletischen oder polyphyletischen Ursprungs ist. Dieses Thema wurde bereits in mehreren Arbeiten diskutiert, in jüngster Zeit auch anhand von Daten auf der Basis molekularer Marker (Dvorak et al. 1998, Talbert et al. 1998). Anlaß zu einer weiteren Untersuchung dieser Fragestellung ist der Einsatz bisher in diesem Zusammenhang noch nicht verwendeten molekularen Markertyps, Mikrosatelliten (simple sequence repeats, SSR). Im Vergleich zu anderen üblichen molekularen Markern zeigen Mikrosatelliten eine vergleichsweise große Zahl an Allelen, werden co-dominant vererbt und können, da sie spezifisch für die zu untersuchende Art entwickelt werden und in Weizen ihre chromosomale Lokalisation meist bekannt ist, gezielt gleichmäßig über das Genom verteilt gewählt werden.

Damit bietet diese Arbeit heute den bisher an molekularen Datenpunkten umfassendsten Vergleich zwischen dem D-Genom von *T. aestivum* und *Ae. tauschii*.

## Material und Methoden

### Pflanzenmaterial

Diese Arbeit basiert auf Daten, die aus dem Vergleich von 60 europäischen Weizensorten (aus Österreich, Deutschland und Ungarn, siehe auch Stachel et al. 1999) mit 60 *Aegilops tauschii*-Accessions hervorgingen. Bei der Auswahl der *Aegilops*-Genotypen wurde besonderer Wert auf deren gleichmäßige Verteilung über das Herkunftsgebiet westlich und östlich des Kaspischen Meeres gelegt. Die Zuordnung zu Unterarten, ob *Ae. tauschii* ssp. *strangulata* oder ssp. *tauschii*, ist für diese 60 Genotypen nicht vorhanden. Auch der Ursprungsort der Genotypen ist nur durch das Ursprungsland gekennzeichnet. Nur für eine Region, im Iran, ist der genaue Ursprungsort

der Genotypen bekannt. Glücklicherweise ist für unsere Fragestellung gerade die Herkunft der iranischen Genotypen von besonderer Bedeutung.

### Marker und Analyseverfahren

Der Vergleich von *T. aestivum* und *Ae. tauschii* wurde anhand von 14 Mikrosatelliten-Markern durchgeführt. Von diesen war jeweils einer auf jedem Chromosomenarm des D-Genoms lokalisiert (Tabelle 1), womit deren gleichmäßige Verteilung gewährleistet war.

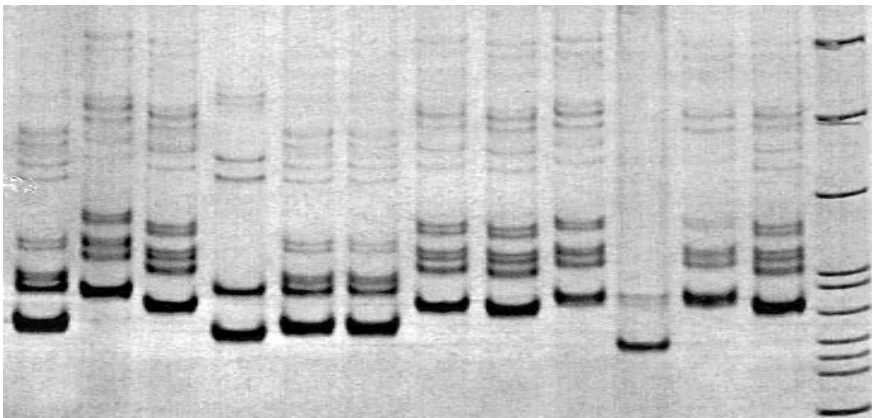
Nach DNA-Isolation aus dem Weizenkorn, Polymerasekettenreaktion (PCR), Polyacrylamid-Gelelektrophorese und Silberfärbung wurden die resultierenden Elektrophoresegele (Abbildung 1) in mehrfacher Hinsicht ausgewertet. Neben einem reinen Vergleich der Allelhäufigkeiten wurden darauf aufbauend PIC-values (Polymorphism Information Content) für den jeweiligen Markerlokus berechnet. Diese Werte geben Hinweis auf das Informationspotential eines

**Tabelle 1: Chromosomale Lokalisation, PIC-values und Allelverteilung der 14 Mikrosatelliten-Loci in *Ae. tauschii* (A) und dem D-Genom von *T. aestivum* (T)**

'Lokus'	Lokalisation	<i>Aegilops</i> (A) <i>Triticum</i> (T)	PIC	Allele														
				0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11			
1	1DL	A	0.69	27	11	8	14											
		T	0.50		30	30												
2	1DS	A	0.84	2	11	14	5	7	1	4	12	4						
		T	0.38	3	47	4	2	1	1	2								
3	2DL	A	0.64	17	7	31	3	1										
		T	0.00	60														
4	2DS	A	0.75	4	10	9	9	25	3									
		T	0.69	7	11	28	14											
5	3DL	A	0.86	8	7	9	3	15	6	5	5	2						
		T	0.69	4	21	12	23											
6	3DS	A	0.65	22	6					27	5							
		T	0.64	3	4	31	2	3	17									
7	4DL	A	0.86	4	1	6	12	12	3	3	11	2	6					
		T	0.50	33	27													
8	4DS	A	0.00	60														
		T	0.00	60														
9	5DL	A	0.78	14	20	7	6	9	4									
		T	0.67	3	7	4	6	32	7	1								
10	5DS	A	0.80	17	15	11	5	4	5	1	2							
		T	0.03	1	59													
11	6DL (cent)	A	0.64	2	33	1	1	4	12	6	1							
		T	0.67	11	25	21	3											
12	6DS	A	0.58	1	9	2	3	5	37	3								
		T	0.55	1	2	17	36	4										
13	7DL	A	0.86	10	10	5		3	1	1	8	11	3	8				
		T	0.71	28	5	12	8	7										
14	7DS (cent)	A	0.56						4	27	29							
		T	0.65	1	8	19	29	2	1									
Mittlerer PIC		A	0.68															
		T	0.48															

**Autoren:** Prof. Dr. Tamas LELLEY und Dipl.-Ing. Maria STACHEL, Abteilung Biotechnologie in der Pflanzenproduktion, IFA-Tulln, Konrad-Lorenz-Str. 20, A-3400 TULLN; Dr. Heinrich GRAUSGRUBER und Prof. Dr. Johann VOLLMANN, Institut für Pflanzenbau und Pflanzenzüchtung, Universität für Bodenkultur, Gregor Mendel Str. 33, A-1180 WIEN





**Abbildung 1: Beispiel eines Polyacrylamid-Elektrophoresegels von *Ae. tauschii* mit einem Mikrosatellitenprimer. Die intensivste Bande (hier das kleinste Fragment) entspricht dem auszuwertenden Allel.**

Markerlokus, wobei neben der Allelzahl pro Lokus auch die relative Häufigkeit der Allele in der vorliegenden Population berücksichtigt wird (Anderson et al. 1993).

Auf der reinen Allelinformation beruht auch die Berechnung der genetischen Distanzen (GD; Nei und Li, 1979), die Aufschluß geben, wie viele Allele jede Genotypenkombination gemeinsam hat, d.h. wie nah verwandt zwei Genotypen im Vergleich zu allen anderen Genotypen sind. Diese Daten wurden anschließend in einer Clusteranalyse (UPGMA) verrechnet, die Verwandtschaftsverhält-

nisse in Form eines Dendrogramms dargestellt.

### Ergebnisse

Der in dieser Arbeit durchgeführte Vergleich des D-Genoms von *T. aestivum* mit *Ae. tauschii* erfolgte anhand der in *Tabelle 1* aufgeführten Allele. Die Daten hinsichtlich des Allelvorkommens im D-Genom des hexaploiden Weizens wurden einer vorangegangenen Arbeit entnommen (Stachel et al. 1999). *Tabelle 1* zeigt im Detail die Anzahl der Allele in jedem Lokus für *Aegilops* und *Triticum*. Insgesamt lag die durchschnittliche Al-

lelzahl pro Lokus für *Aegilops* bei 6,5, für Weizen bei 4,0. Der Vergleich bestätigte die Erwartung einer sehr viel ausgeprägteren Variabilität der diploiden Spezies.

Ebenso zeigen die PIC-Values für *Aegilops* eine in jedem Lokus deutlich höhere Diversität (*Tabelle 1*).

Die errechneten genetischen Distanzen aller *Aegilops*-Genotypen zu Weizen liegen zwischen 0,74 und 0,97.

Das Dendrogramm der Clusteranalyse (hier nicht abgebildet) zeigte zwei getrennte Gruppen für Weizen und *Aegilops*, ohne dass eine Gruppe von *Aegilops*-Genotypen als auffällig nah mit Weizen verwandt auffiel. Der vergleichenden Allelanalyse von Weizen und *Aegilops* in den diversen Regionen lag die Allelverteilung in *Tabelle 2* zugrunde. Ihr geographischer Ursprung ist in *Abbildung 2* ersichtlich.

### Diskussion

Zur Klärung der Frage nach dem Ursprung des Weizens, wurden in einem ersten Ansatz die errechneten genetischen Distanzen interpretiert. Die 10 *Aegilops*-Genotypen, die laut GD am nächsten zu Weizen verwandt sind, erwiesen sich als weit über das gesamte

**Tabelle 2: Geographische Verteilung der 87 Allele (86 plus jenes des monomorphen 'Lokus' 8) der 14 Mikrosatelliten-Loci (1-14) in den 60 *Aegilops tauschii*-Accessionen. Genotypen der 'Ost-Gruppe' (Uzbekistan, Afghanistan und Tadjikistan) sind durch eine gestrichelte Linie abgetrennt. Regionsspezifische Allele sowie Allele, die in zwei oder drei Regionen vorkommen, sind durch grauen Hintergrund gekennzeichnet, seltene Allele, die sowohl in *Aegilops* wie auch in Weizen auftreten, sind eingerahmt.**

Herkunft der	n	'Lokus'																																			
		1			2					3					4					5					6					7							
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10				
Russia	3	1*			2					1					2	1				1	2					1	1					1	2				
Georgia	7		1	1	1	2	1	1	1	1		1	1	1	1	1				1	1	1				3	1	2	1			1					
Armenia	8		1	1	2	1	1	2	2	4	4				3	2	2	1		3	1	2	2			5	2	1				2					
Azerbajjan	11	1	1	4	2	7				1	1	1	1	1	8	1	2			3	4	2	2			2		1	1	2	4	1	3	1	7		
Iran	5	1	2	1		1	1	1		1	1	2	2		1	2	2			1	2	2				2		1	2			3	2				
Turkmenistan	7	1		3	2	1	1	1		2	7				2	5				1	2	4				1	2	2	2			3	4				
Uzbekistan	5	2	2	1		1	1	1		2		1	1	3	1	2	2			3	1	1				1	1	3	1			1					
Afghanistan	3	2	1			1	2				1	2				3				1	2					1	1	1				1	1	1			
Tadjikistan	7	2	1	2	1		1			3	1				7		1	1	5	1	1	5				2	3	1				4	3				

Herkunft der	n	'Lokus'																																				
		8			9			10					11					12					13					14										
		1	2	3	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	7	8	1	2	3	4	5	6	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
Russia	3	3		1						2					2					1						1	1					1	1					
Georgia	7	7		2	1	1	1	1	1	3	1	1	1	1	1					1	1					5						1	1					
Armenia	8	8		2	2	1	1	1	1	1	1				5	1				5	1					2						1	1					
Azerbajjan	11	#		1	2	4	1	3						4					3	3	1				1	1	1	2	3	2	2	3	1					
Iran	5	5		1	1	3				2	1				1	1				1	1	2				1	2	2			2	1						
Turkmenistan	7	7		1	3	1	2			2	4	1			5					2						3					4							
Uzbekistan	5	5		3	2					1	2				1	1				4						1					3							
Afghanistan	3	3		1	2					2	1				2					2						3	1				1							
Tadjikistan	7	7		5	1	1	5	2						6					1						6					1								

\* Anzahl der Accessionen mit diesem Allel



Abbildung 2: Übersichtskarte der Region, aus der die untersuchten *Aegilops*-Accessionen stammen. Sterne (\*) kennzeichnen regionsspezifische, Kreuze (+) seltene Allele, die *Aegilops* und Weizen gemeinsam sind.

Verbreitungsgebiet von *Aegilops tauschii* verteilt. Demnach müßte man davon ausgehen, dass keine eng verwandte Gruppe von *Aegilops* Genotypen existiert, die einen monophyletischen Ursprung des Weizens nahe legen würde.

Zu demselben Ergebnis gelangt man auch durch die Interpretation der Hauptallele des Weizens (Tabelle 1), also jener Allele, die in mindestens der Hälfte der untersuchten Weizenpopulation vorlagen. Führt man diese Hauptallele über jene *Aegilops*-Accessions mit demselben Allel auf ihre geographische Herkunft zurück, so sind auch diese *Aegilops*-Genotypen gleichmäßig über ihr Herkunftsgebiet verteilt.

Bei diesen und dem Großteil der Allele in *Aegilops* handelt es sich allerdings um solche die für unsere Fragestellung nicht informativ sind, weil sie besonders alt sein dürften und schon existierten, bevor sich die Spezies *Ae. tauschii* im Nahen und Mittleren Osten ausbreitete.

Im Gegensatz zu den oben untersuchten Hauptallelen wurde in einem weiteren Ansatz das Vorkommen besonders seltener Allele in *Aegilops* ausgewertet, d.h. Allele, die nur in einer bis zu drei Regionen gefunden wurden und die jüngeren Ursprungs sein dürften.

Es zeigte sich, dass diese seltenen Allele (bis auf eine Ausnahme in Usbekistan) ausschließlich aus der Region westlich des Kaspischen Meeres bzw. entlang dessen Küste stammten (Abbildung 2).

Das bedeutet, dass westlich und entlang der südlichen Küste des Kaspischen Meeres eine Anzahl von Allelen existiert, die im Weizen D-Genom vorkommen, jedoch im Osten des Herkunftsgebietes von *Ae. tauschii* (Usbekistan, Tadjikistan und Afghanistan) nicht auftreten. Umgekehrt dagegen liegt in diesem Material kein Allel vor, das für die Ostgruppe spezifisch wäre. Dies wird auch in einem Dendrogramm auf der Basis der durchschnittlichen GD der einzelnen Regionen deutlich, wo diese Ostgruppe ein eigenes Cluster bildet (Abbildung 3). Diese ausgeprägte Variabilität in der Westregion gibt einen Hinweis auf eine verstärkte evolutionäre Aktivität von *Ae. tauschii* westlich des Kaspischen Meeres im Vergleich zum Osten.

Auch die Antwort auf die Frage, welche Gruppe von *Aegilops*-Genotypen letztendlich als D-Genom-Donor des heutigen Brotweizens betrachtet werden kann, ist bis heute noch sehr spekulativ. Von den zwei *Aegilops*-Subspezies *ssp. tauschii* und *ssp. strangulata*, die bisher hauptsächlich aufgrund morphologischer Marker unterschieden wurden, wird die Subspezies *strangulata* bzw. der „strangulata-pool“ als wahrscheinlichster D-Genom-Donor betrachtet. Letzterer ergibt sich aus einer Verwischung der Grenzen zwischen den beiden Subspezies insbesondere südwestlich des Kaspischen Meeres aufgrund neuerer molekularer Daten (Dvorak et al. 1998).

Da für die in dieser Arbeit untersuchten *Aegilops*-Genotypen keine Zuordnung zu Subspezies bekannt war, wurde sie anhand der Ergebnisse von Dvorak et al (1998) rekonstruiert. Demnach ist die *ssp. tauschii* über das gesamte Herkunftsgebiet verbreitet, während die *ssp. strangulata* nur in eng begrenzten Gebieten an der Küste des Kaspischen Meeres auftritt (Azerbaidjan, NW und SO Iran).

Da die in dieser Arbeit zur Interpretation herangezogenen seltenen Allele zwar auch in Azerbaidjan und in Iran südlich vom Kaspischem Meer, darüber hinaus aber auch in Georgien und Armenien – also in rein *ssp. tauschii* zugeordneten Gebieten – auftreten, lassen diese Daten den Schluß zu, dass nicht, wie bisher angenommen, nur der *strangulata*-pool Donor des D-Genoms gewesen sein kann. Ob der heutige Brotweizen letzt-

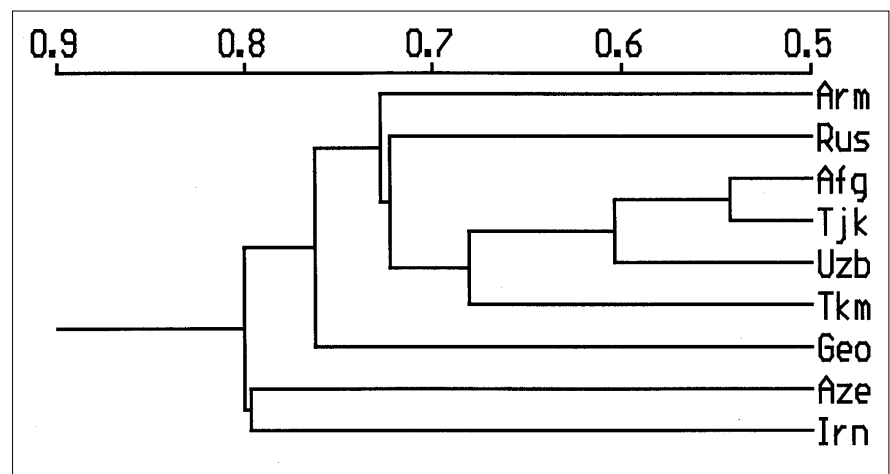


Abbildung 3: Clusteranalyse (UPGMA) der durchschnittlichen regionalen genetischen Distanzen der *Aegilops*-Accessionen

endlich mehrmals unabhängig voneinander entstanden ist oder seinem Ursprung ein einmaliges Entstehungsereignis zugrunde liegt, auf das eine wiederholte Introduktion durch Kreuzung zwischen kultivierten Formen und neu entstandenen amphidiploiden Genotypen erfolgte (Zohary and Hopf 1993), ist heute nicht mehr unterscheidbar.

## Zusammenfassung

Die Frage, ob der heutige Brotweizen monophyletischen Ursprungs ist oder mehrmals unabhängig voneinander entstanden ist, ist bis heute nicht geklärt. Mit Mikrosatelliten, einem in diesem Zusammenhang noch nicht eingesetzten molekularen Markertyp, wurden 60 *Aegilops tauschii*-Accessionen und 60 europäische Weizensorten dahingehend untersucht, ob sich eine Gruppe von *Aegilops*-Genotypen als D-Genom-Do-

nor herauskristallisiert. Der Vorteil der hier verwendeten 14 D-Genom-spezifischen Mikrosatelliten ist deren hoher Grad an Polymorphismus auch im Weizenmaterial (4,0 Allele pro Lokus; in *Aegilops* 6,5) und deren gleichmäßige Verteilung im D-Genom (ein Marker pro Chromosomenarm). Die in dieser Arbeit ermittelten Daten legen nahe, dass der hexaploide Weizen mehreren Quellen und nicht allein dem strangulata-Genpool entspringt.

## Literatur

- ANDERSON, J.A., CHURCHILL, G.A., AUTRIQUE, J.E., TANKSLEY, S.D., and SORRELLS, M.E. 1993. Optimizing parental selection for genetic linkage maps. *Genome* **36**: 181-186.
- DVORAK, J., LUO, M.-C., YANG, Z.-L., and ZHANG, H.-B. 1998. The structure of the *Aegilops tauschii* genepool and the evolution of hexaploid wheat. *Theor. Appl. Genet.* **97**: 657-670.
- NEI, M., and LI, W.H. 1979. Mathematical model for studying genetic variation in terms of restric-

tion endonucleases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **76**: 5269-5273.

STACHEL, M., LELLEY, T., GRAUSGRUBER, H., and VOLLMANN, J. 1999. Application of microsatellites in wheat (*Triticum aestivum* L.) for studying genetic differentiation caused by selection for adaptation and use. *Theor. Appl. Genet.* (in press).

TALBERT, L.E., SMITH, L.Y., and BLAKE, N.K. 1998. More than one origin of hexaploid wheat is indicated by sequence comparison of low-copy DNA. *Genome* **41**: 402-407.

ZOHARY, D., and HOPF, M. 1993. Domestication of plants in the old world. (2<sup>nd</sup> edition) Oxford University Press. pp. 49-53.

## Danksagung

Unser Dank gilt Dr. Victor Korzun, IPK Gatersleben, für Aliquots der verwendeten Mikrosatelliten-Primer, ebenso wie Dr. Andreas Börner, der die untersuchten *Aegilops*-Accessionen aus der IPK-Sammlung ausgewählt hat. Frau Gertraud Stift und Dr. Gyula Csanadi danken wir herzlich für deren Unterstützung im Zuge stetiger Diskussionen.