

# Erwartungen eines Rapszüchters an die Genomforschung

M. FRAUEN

Die Erfolge im Rapsanbau in den letzten fünf Jahrzehnten sind in erster Linie ein Erfolg der traditionellen Pflanzenzüchtung gewesen, mit deren Hilfe die beiden Qualitätsumstellungen und die Einführung von Hybridsorten umgesetzt werden konnten. So stieg die Anbaufläche in Deutschland seit 1953 von ca. 150.000 ha auf ca. 1,5 Mio. Hektar an, seit 1990 bis heute wurde ein linearer, jährlicher Ertragsfortschritt in der Praxis von +0,59 dt/ha erzielt. Die im Verlauf der Sortenentwicklung zu berücksichtigenden Zuchtziele umfassen eine Vielzahl von Einzelmerkmalen, wobei die 00-Qualität absolut prioritär ist und danach Kornertrag und Ölgehalt als wichtigste Merkmale zu nennen sind, ergänzt um eine Vielzahl von agronomischen Faktoren, einschließlich Resistenzen gegenüber Krankheiten und Schädlingen.

Genomische Werkzeuge können in der Rapszüchtung verwendet werden zum einen bei der Schaffung von genetischer Varianz und zum anderen bei der Einengung der genetischen Varianz während des Selektionsprozesses. Bei der Schaffung der genetischen Varianz sind genomische Werkzeuge wie folgt einsetzbar (Tabelle 1).

Für die Auswahl leistungsfähiger F1-Hybridkombinationen ist die genetische Distanz zwischen den Linien auch bei der Kulturart Raps eine wichtige Information (Abbildung 1).

Allerdings gibt es bei dem untersuchten Material eine brauchbare lineare Beziehung nur innerhalb des adaptierten Materials, bei Verwendung von exotischem Material mit höherer genetischer Distanz (GD) sind Erfolge bezüglich einer höheren Hybridleistung bislang ausgeblieben.

Dennoch bietet das Fingerprinting von Linien eine gute Ausgangsbasis in der Kreuzungsplanung mit der Zielstellung,

zwei getrennte Genpools innerhalb des adaptierten Zuchtmaterials bei Winter-raps zu kreieren. In der *Abbildung 2* ist

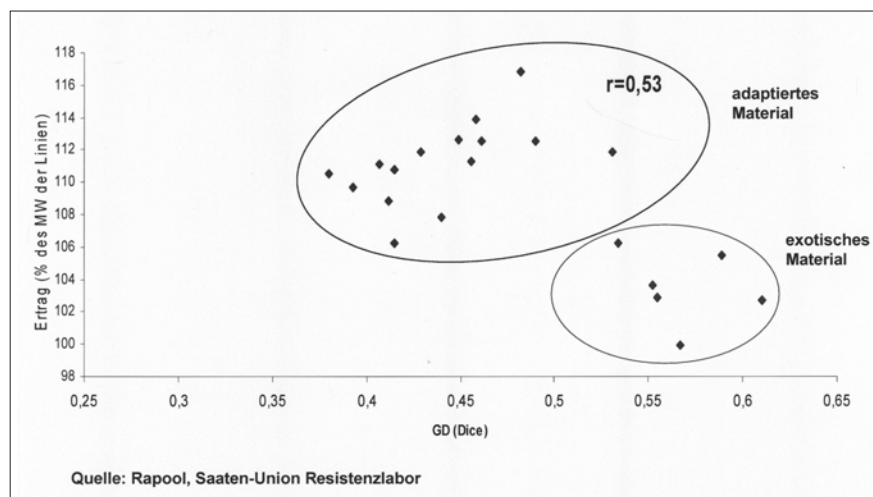


Abbildung 1: Korrelation zwischen der GD der Linien und der F1-Hybridleistung bei Winter-raps (Ergebnisse eines 7 x 7 Diallel)

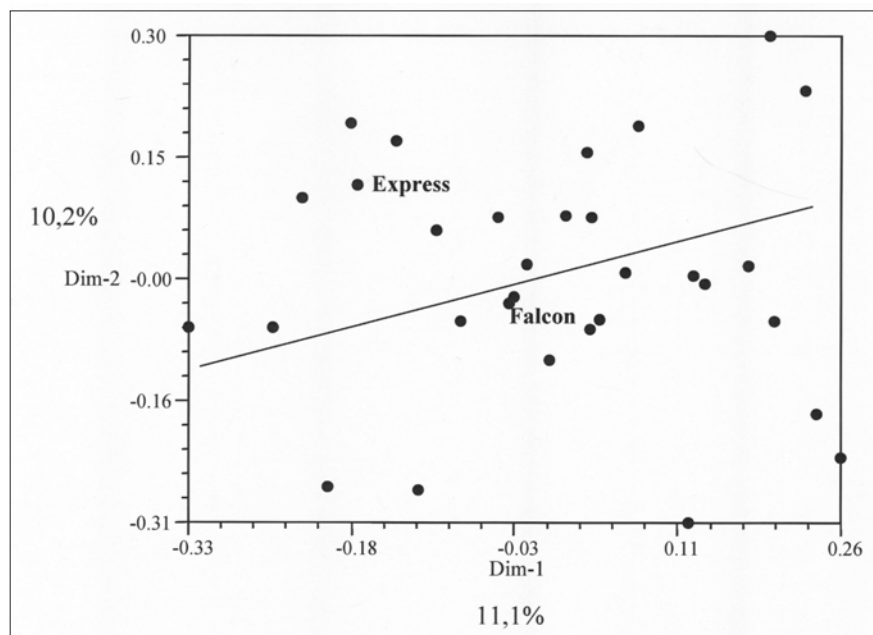


Abbildung 2: GD-Analyse nach Hauptkoordinaten für die Genpool-Differenzierung bei Raps

Tabelle 1: Schaffung genetischer Varianz durch genomische Werkzeuge

1. Kreuzungen innerhalb von adaptiertem Rapszuchtmaterial	Molekulare Marker für Kreuzungsplanung (!)
2. Kreuzungen mit exotischem Raps-Material	Molekulare Marker für Kreuzungsplanung (?)
3. Kreuzungen mit verwandten Kruziferen-Arten	Molekulare Marker für Kreuzungsplanung (??)
4. Mutagenese	Tilling
5. Transgene Merkmale	Gentransfer

Autor: Dr. Martin FRAUEN, Norddeutsche Pflanzenzücht, Hans-Georg Lembke KG, Hohenlieth, D-24363 HOLTSEE



dieses schematisch dargestellt, die Kreuzungsplanung in diesem Beispiel sollte konsequent nur innerhalb der Linien unter/oberhalb der Pooltrennung erfolgen.

In der Vergangenheit und in laufenden Projekten wurde die genetische Varianz bei Raps durch Kreuzung mit verwandten Arten erheblich erweitert (Tabelle 2).

Die Genomforschung hat bislang wenig Unterstützung geliefert bei dem Prozedere zur Erweiterung der Varianz durch interspezifische Kreuzungen, erst bei der nachfolgenden Selektion der neuartigen Eigenschaften kommen genomische Werkzeuge zum Einsatz. Es erscheint sinnvoll, schon vor Beginn dieser aufwändigen Kreuzungen genomische Werkzeuge innerhalb der verwandten Arten einzusetzen, um gezielter und systematischer mit der Kreuzungsarbeit zu beginnen.

In der Vergangenheit wurde durch Selektion spontaner und induzierter Mutanten die genetische Varianz innerhalb der Art *Brassica napus* erheblich ausgeweitet (Tabelle 3).

In einem laufenden Mutagenese-Projekt wird mithilfe der Tilling-Strategie angestrebt, den Gehalt an Sinapinsäureester im Rapssamen zu senken, wodurch eine bessere Proteinnutzung des Rapssamens für die tierische und menschliche Ernährung erreicht wird. Durch einen transgenen Antisense-Ansatz konnte gezeigt werden, dass die Inaktivierung des SGT-Gens zu einer deutlichen signifikanten Reduzierung der Sinapinsäureester führt. Die Sequenz des SGT-Gens ist bekannt, es lässt sich mithilfe des Tilling-Ansatzes auf Knock-out-Mutanten dieser Gene selektieren. Aufgrund des amphidiploiden Charakters des Rapses und weiterer historischer DNA-Duplikationen sind allerdings mindestens zwei, wahrscheinlich sogar weitere aktive Genkopien zu erwarten.

Mithilfe des Gentransfers konnten bei Raps eine Reihe neuartiger genetischer Varianzen erzeugt werden (Tabelle 4).

Von weltweit hohem Interesse ist die Entwicklung von LCPUFA-haltigem Raps, d.h. von Rapsformen mit einem möglichst hohen Gehalt an mehrfach ungesättigten, langkettigen Omega-3-Fettsäuren. Diese ernährungsphysiolo-

**Tabelle 2: Erweiterung der genetischen Varianz bei Raps durch Kreuzung mit verwandten Arten**

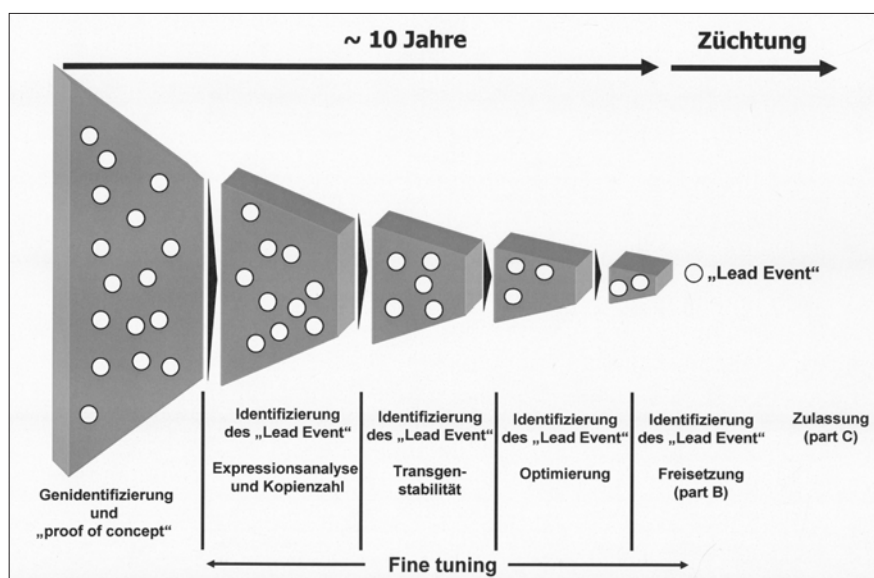
Eigenschaft	Quelle
Phoma-Resistenzen	<i>Brassica rapa</i> , <i>Brassica juncea</i>
Kohlhernie-Resistenzen	<i>Brassica rapa</i> , <i>Brassica oleracea</i>
TuYV-Resistenz	<i>Brassica rapa</i>
Ogura-Hybridssystem	<i>Raphanus sativus</i>
Gelbsamigkeit	<i>Brassica rapa</i> , <i>Brassica carinata</i> , <i>Brassica juncea</i>
Verticillium-Resistenzen	<i>Brassica rapa</i> , <i>Brassica oleracea</i>

**Tabelle 3: Beispiele für spontane und induzierte Mutanten bei Raps**

Eigenschaft	Mutation	Selektion	Anzahl Gene
Erucasäurefreiheit	spontan	Phänotyp	2 Gene
Glucosinolatarmut	spontan	Phänotyp	3 Gene
HOLLI (Hoch Ölsäure, niedrig Linolensäure)	induziert	Phänotyp (2 Schritte)	5 Gene
Zwergwuchs	induziert	Phänotyp	1 Gen
IMI-Herbizid-Toleranz	induziert	Phänotyp	2 Gene
TT (Triazin-Herbizid-Toleranz):	spontan	Phänotyp	plasmatisch
Sinapin-Armut	induziert	Tilling (lfd. Projekt)	(? Gene)

**Tabelle 4: Beispiele für neuartige transgene Varianz bei Raps**

Eigenschaft	Anzahl Gene	Status
Roundup-Ready (RR) Herbizidresistenz	1 Gen	im Markt
Liberty-Link (LL) Herbizidresistenz	1 Gen	im Markt
Seedlink Hybridssystem	4 Gene	im Markt
Fettsäuremodifikationen		Forschungsprojekte
Niedrig-Sinapin		Forschungsprojekte
Hoch-Tocopherol		Forschungsprojekte
Stress-Toleranz		Forschungsprojekt



**Abbildung 3: Entwicklungsschritte für züchterisch nutzbare transgene Varianz**

gisch sehr wertvollen Fettsäuren stammen bislang nur aus marinen Lebewesen, terrestrische Pflanzen sind nicht in der Lage, diese wertvollen Fettsäuren zu synthetisieren. Der Biosyntheseweg und die erforderlichen Gene (2 bzw. 3 Desaturasen und 1 bzw. 2 Elongasen) sind bekannt, im Verbundprojekt NAPUS

2000 konnten die entsprechenden Gene identifiziert, geklont und in Öllein bzw. Raps transformiert werden. Mit etwa 2% Arachidonsäure (ARA) und 1,5% Eicosapentaensäure (EPA) und bis zu 10% ARA ohne EPA konnte im Öllein die grundsätzliche Machbarkeit (proof of concept) für die Expression dieser neu-

artigen Fettsäuren in Ölpflanzen gezeigt werden. Die sehr aufwändige Arbeit zur Optimierung dieser transgenen Varianz bis hin zum so genannten „Lead Event“ ist ein langer, mühsamer Weg, welcher meist zeit- und kostenträchtiger ist als der erste Schritt zum Beleg der Machbarkeit. Diese auch als „Finetuning“ bezeichneten Projekte werden in der Genomforschung häufig als weniger interessant angesehen. Die in *Abbildung 3* dargestellten Schritte sind allerdings noch nicht als Züchtung zu bezeichnen, erst bei Vorliegen des Lead Event, welches auch alle Voraussetzungen für eine Part C Zulassung erfüllt, kann mit der eigentlichen Züchtung von LCPUFA-haltigen Sorten begonnen werden.

Rapszüchter haben hohe Erwartungen an die molekulare Phytopathologie zur systematischen Verbesserung von Resistenzeigenschaften. Leider sind die molekularen Kenntnisse über Wirt-Pathogen-Interaktion bei Rapskrankheiten und Rapsschädlingen weitgehend unbekannt, so dass bislang weder Virulenzgene auf Seiten der Pathogene noch Resistenzgene auf Seiten der Kulturpflanze oder bei verwandten Kruziferenarten identifiziert werden konnten. Erst nach Vorliegen solcher Kenntnisse können die Resistenzeigenschaften über Kreuzungen introgressiert und pyramidiert werden oder über transgene Verfahren übertragen werden. Hier wird ein weites Betätigungsfeld der Genomforschung zum Nutzen der Resistenzzüchtung bei Raps gesehen.

**Abbildung 4: Beispiele molekulargenetischer Marker für relevante Merkmale von Raps (nach FRIEDT, 2006)**

Merkmalskomplex	Spezifische Eigenschaft	In Anwendung
Pflanzentyp	Wuchshöhe (Zwergtyp)	+
	Blühzeit (Beginn, Dauer)	
	Blütenblattlosigkeit	
Cytoplasmatische männliche Sterilität	Samenfarbe (schwarz-gelb)	(+)
	Ogura CMS	+
Toleranz gegen abiotischen Stress	Polima CMS	
	Fertilitätsrestauration	+
Krankheitsresistenz	Kälteresistenz	
	Winterhärte	
Samenölqualität	Phoma-Resistenz	+
	Resistenz gegen Weißrost	
	Virus-Resistenz (TMV, TuYV)	(+)
	Erucasäuregehalt	
	Öl-, Linol-, Linolensäure-Anteile	
	Glucosinolatgehalt und Muster	
	Lignin- und Tanningehalt	

Zur Optimierung und Beschleunigung des Selektionsprozesses werden auch in der Rapszüchtung diagnostische molekulare Marker eingesetzt. *Abbildung 4* zeigt eine Übersicht der in der Literatur beschriebenen Marker, welche zum Teil bereits routinemäßig in der Züchtung verwendet werden.

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass genomische Werkzeuge laufend in den aktuellen Züchtungsprozess bei Raps integriert werden, insbesondere sind die molekularen Marker für die Kreuzungsplanung, für die Steuerung von Rückkreuzungsprogrammen und für die indirekte markergestützte Selektion von wichtigen Zielmerkmalen zu nennen. Unter Berücksichtigung der Gesamtkos-

ten der Markeranalyse, inklusive Identifizierung der Einzelpflanzen, der Blattentnahme und der DNA-Aufbereitung, sind molekulare Marker häufig noch vergleichsweise teuer im Vergleich zur traditionellen Züchtung. Durch weitere Kostendegression dürfte sich diese Situation allerdings laufend verbessern.

Wichtig erscheint, die Nutzung der genetischen Varianz von verwandten Arten zu optimieren, insbesondere durch Nutzung von Erkenntnissen der molekularen Phytopathologie.

Eine offene Frage stellt sich im Hinblick auf Nutzung von transgenen Eigenschaften in Europa, kurzfristig wird dieses wohl weiterhin nur in Nordamerika wirtschaftlich umgesetzt werden.